FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

656

ANNÉE 1966

# THÈSE

N°

POUR

# LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

**Michel FAUCHET**

Né le 14 Novembre 1939, à Bourges (Cher)

*Présentée et soutenue publiquement le* 196

# CONTRIBUTION A L'ETUDE DES EFFETS DES RADIATIONS IONISANTES SUR LA VITAMINE K

Président : M. KELLERSOHN, Professeur

PARIS — 1966

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1966 **THÈSE** N°

POUR

## LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

**Michel FAUCHET**

Né le 14 Novembre 1939, à Bourges (Cher)

*Présentée et soutenue publiquement le* 196

# CONTRIBUTION A L'ETUDE DES EFFETS DES RADIATIONS IONISANTES SUR LA VITAMINE K

Président : M. KELLERSOHN, Professeur

PARIS — 1966

## PROFESSEURS HONORAIRES

MM. Alajouanine (T.), Aubin (A.), Bénard (H.), Binet (L.), Bulliard (H.), Cathala (J.), Chabrol (E.), Chailley-Bert (P.), Debré (R.), Fey (B.), Galliard (H.), Gaudart d'Allaines (F. de), Gennes (L. de), Halphen (E.), Hazard (R.), Heuyer (G.), Laroche (G.), Lavier (G.), Lelong (M.), Lévy-Solal (E.), Lian (C.), Marchal (G.), Mathieu (P.), Monod (R.), Moreau (R.), Moulonguet (P.), Pasteur Vallery-Radot, Petit-Dutaillis (D.), Piédelièvre (R.), Quénu (J.), Renard (G.), Richet (C.), Senèque (J.), Strohl (A.), Tanon (L.), Verne (J.).

Doyen : Georges BROUET

1er assesseur : Daniel BARGETON — 2e assesseur : Jean GOSSET

## I. — PROFESSEURS

### 1° CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

#### *a*) Professeurs titulaires :

| | MM. |
|---|---|
| Anatomie | Delmas (A.) |
| Anatomie et cytologie path. | Delarue (J.) |
| Anesthésiologie | Baumann (J.) |
| Bactériologie et virologie | Tournier (P.) |
| Biochimie médicale | Jayle (M.-F.) |
| | Polonovski (J.) |
| Biologie appl. à l'Education physique et aux Sports | Malmejac (J.) |
| Biologie médicale | Fauvert (R.) |
| Biophysique médicale | Bugnard (L.) |
| | Dognon (A.) |
| | Djourno (A.) |
| Cancérologie méd. et soc. | Denoix (P.) |
| Chimie pathologique | Schapira (G.) |
| Embryologie | Tuchmann (H.) |
| Génétique fondamentale | Lejeune (J.) |
| Histoire de la médecine et de la chirurgie | Coury (Ch.) |
| Histologie | Giroud (A.) |
| Hygiène et méd. préven. | Boyer (J.) |
| Médecine du Travail | Desoille (H.) |
| Médecine légale | Derobert (L.) |

| | MM. |
|---|---|
| Microbiologie (Bactériol. et virologie) | Fasquelle (R.) |
| Parasitologie | Brumpt (L.-C.) |
| Pathologie chirurgicale | Laurence (G.) |
| | Kuss (R.) |
| | Verne (J.-M.) |
| Pathologie exotique | N... |
| Pathol. expér. et comparée | Merklen (F.-P.) |
| Pathologie médicale | Laroche (Cl.) |
| | Bricaire (H.) |
| | Péquignot (H.) |
| Pathologie respiratoire | Turiaf (J.) |
| Pathol. et thérap. générales | N... |
| Pharmacologie | Cheymol (J.) |
| | Levy (Mlle J.) |
| Physiologie | Bargeton (D.) |
| | Parrot (J.) |
| Physiol. et pathol. obstét. | Lepage (F.) |
| Radiologie médicale | Desgrez (H.) |
| Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale | Cauchoix (J.) |
| Thérapeutique | Conte (M.) |
| Thérapeutique appliquée | Lamotte (M.) |

#### *b*) Professeurs a titre personnel :

| | |
|---|---|
| Anatomie anthropologique | Olivier (G.) |
| Anatomie pathologique | Nezeloff (Ch.) |
| Bactériologie | Barbier (P.) |
| Biochimie médicale | Desgrez (P.) |
| | Dreyfus (J.-Cl.) |
| Biologie médicale | Bourlière (F.) |
| Histologie | Coujard (R.) |
| Parasitologie | Larivière (M.) |

| | |
|---|---|
| Pathologie expérimentale | Loeper (J.) |
| | Richet (G.) |
| Physiologie | Dejours (P.) |
| | Scherrer (J.) |
| Physique médicale | Kellershohn (L.) |
| | Gougerot (L.) |
| | Roucayrol (J.-Cl.) |
| | Tubiana (M.) |
| Radiologie médicale | Fischgold (H.) |

## 2° CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

### *a*) Professeurs titulaires :

| *Cliniques :* | MM. |
|---|---|
| — carcinologique chirurg. (Necker) | Redon (H.) |
| — cardiol. (Broussais) | Soulié (P.) |
| — cardiol. (Boucicaut) | Lenègre (J.) |
| — chirurgicales : *Beaujon :* Lortat-Jacob (J.-L.) - *Beaujon :* N... - *Cochin :* Leger (L.) - *Hôtel-Dieu :* Patel (J.) - *Saint-Antoine :* Gosset (J.) - *Salpêtrière :* Sicard (A.) - *Tenon :* Olivier (Cl.) | |
| — chirurg. orthopéd. et traumatol. (Cochin) | Merle d'Aubigné (R.) |
| — chirurg. orthopéd. et traumatol. (Foch) | Padovani (P.) |
| — chirur. infant. et orthop. (Enfants-Malades) | Fèvre (M.) |
| — chirurgie cardio-vascul. (Broussais) | Dubost (Ch.) |
| — chirurg. pleuro-pulmon. (Laënnec) | Mathey (J.) |
| — dermatol. (Saint-Louis) | Duperrat (F.) |
| — endocrinologique (Pitié) | Decourt (J.) |
| — Génét. médic. (Enfants-Malades) | Lamy (M.) |
| — gynécologique (Broca) | Huguier (J.) |
| — maladies cutanées et syphilit. (Saint-Louis) | Degos (R.) |
| — maladies des enfants (Enfants-Malades) | Turpin (R.) |
| — maladies infectieuses (Claude-Bernard) | Mollaret (P.) |
| — maladies mentales et de l'encéphale (Ste-Anne) | Delay (J.) |
| — malad. métab. (Necker) | Hamburger (J.) |
| — maladies du sang (Broussais) | Bernard (J.) |
| — maladies du système nerveux (Salpêtrière) | Castaigne (P.) |
| — médicales : *Bicêtre :* Deparis (M.) - *Broussais :* Milliez (P.) - *Cochin :* Brouet (G.) - *Hôtel-Dieu :* Bariéty (M.) - *Lariboisière :* Sèze (S. de) *Pitié :* Dreyfus (G.) - *Saint-Antoine :* Kourilsky (R.) - *Saint-Antoine :* Boudin (G.). | |
| — d'hydrologie et de climatologie (Bichat) | Debray (Ch.) |
| — médecine infantile et pédiatrie sociale (Enfants-Malades) | Marie (J.) |

| *Cliniques :* | MM. |
|---|---|
| — médicale propédeutique (Broussais) | Justin-Besançon (L.) |
| — médico-sociale du diabète sucré et des maladie de la nutrition (Hôtel-Dieu) | Derot (M.) |
| — neuro-chirurgie (Pitié) | David (M.) |
| — neurolog. (Salpêtrière) | Garcin (R.) |
| — obstétricales : *Baudelocque :* Lacomme (M.) - *Saint-Antoine :* Merger (R.). | |
| — obstétricale et gynécol. (Port-Royal) | Varangot (J.) |
| — ophtalmol. (Hôtel-Dieu) | Offret (G.) |
| — ophtalmolog. (Cochin) | Bregeat (P.) |
| — oto-rhino-laryngologique (Lariboisière) | Aubry (M.) |
| — pédiatrie | Mozziconacci (P.) |
| — pédiatrie et de puéricul. (Saint-Vincent-de-Paul) | Thieffry (S.) |
| — pneumo-phtisiologie (Laënnec) | Bernard (E.) |
| — neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière) | Michaux (L.) |
| — rhumatologie médicale et sociale (Cochin) | Coste (F.) |
| — stomato. (Salpêtrière) | Dechaume (M.) |
| — thérapeutique chirurg. (Vaugirard) | Roux (M.) |
| — thérapeutique médicale (Saint-Antoine) | Lemaire (A.) |
| — toxicologique | Gaultier (M.) |
| — traumat. et orthopédique (R.-Poincaré) | Judet (R.) |
| — urologique (Cochin) | Aboulker (P.) |
| — urologique (Necker) | Couvelaire (R.) |
| Hygiène et clinique de la 1re enfance (Trousseau) | Laplane (R.) |
| Séméiologie médicale (A. Chantin) | Domart (A.) |
| — (Lariboisière) | Bouvrain (Y.) |
| — (Pitié) | Rambert (P.) |
| — (Rothschild) | Wolfromm (R.) |
| Séméiologie et clinique chirurgicales (Broussais) | Poilleux (F.) |

### *b*) Professeurs a titre personnel :

| | |
|---|---|
| Hématologie | André (R.) Bousser (J.) |
| Hydrologie et climatologie | Giberton (A.) |
| Maladies infectieuses | Bastin (R.) |
| Médecine : Azerad (E.); Bour (H.); Grossiord (A.); Lambling (A.); Launay (Cl.); Payet (M.); Perrault (M.); Siguier (F.); Worms (R.). | |
| Neuro-chirurgie | Le Beau (J.) |
| Neurologie | Lhermitte (F.) |
| Neuro-psychiatrie | Pichot (P.) |
| Oto-Rhino-Laryngologie | Maduro (R.) |
| Pédiatrie | Polonovski (Cl.) Royer (P.) |
| Pneumo-Phtisiologie | Kreis (B.) Meyer (A.) |
| Rhumatologie | Delbarre (F.) |

## II. — PROFESSEURS SANS CHAIRE

| | |
|---|---|
| Anatomie | CABROL (Ch.) |
| Anatomie pathologique | GOUYGOU (Ch.) |
| Anesthésiologie | VOURC'H (G.) |
| Bactériologie | CHRISTOL (D.) |
| Biochimie médicale | CARTIER (P.) |
| | GONNARD (P.) |
| Biologie médicale | HARTMANN (L.) |
| Hématologie | BILSKI-PASQUIER (G.) |
| Maladies infectieuses | DUPONT (V.) |
| Physique médicale | COURSAGET (J.) |
| | GREMY (F.) |
| Physiologie | GIRARD (Fr.) |
| Stomatologie | CHAPUT (Mme A.) |
| Thérapeutique | CHASSAGNE (P.) |

## III. — PROFESSEURS DÉTACHÉS DANS LES UNIVERSITÉS ÉTRANGÈRES

*Bactériologie :* M. HAUDUROY (P.), *pr. s. ch.*

*Pathologie chirurgicale :* RUDLER (J.), *pr. s. ch.*

## IV. — PROFESSEUR ASSOCIÉ

Statistique médicale et épidémiologique .. .. SCHWARTZ (D.)

---

Secrétaire général de la Faculté : M. LENA (J.).
Conseillers administratifs : Mlle CHAINTREUIL (G.), M. FAYE (R.).
Conservateur en Chef de la Bibliothèque, Conservateur du Musée d'Histoire de la Médecine : M. le Docteur HAHN (A.).

Conservateurs : Mlles DUMAITRE (P.), LAURENT (H.), LE NOIR (G.).
Bibliothécaires : Mmes CONTET (J.), FORGET (F.), Mlles DUROZOY (M.-F.), ROBERGE (D.), Docteur SCHILLER (J.).

---

*Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.*

TRAVAIL DU CENTRE DE RECHERCHE FOCH

4, avenue de l'Observatoire

PARIS 5°

Directeur : H. GOUNELLE

---

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR KELLERSOHN

Professeur à la Faculté de Médecine de Paris

(Physique)

Qui nous a fait l'honneur
d'accepter la présidence de cette
thèse.

En hommage respectueux.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544321_0011

A MONSIEUR LE PROFESSEUR Hugues GOUNELLE

Officier de la Légion d'Honneur

Professeur Agrégé du Val de Grâce

Directeur du Centre de Recherches Foch

Membre de l'Académie Nationale de Médecine

En témoignage de profonde

reconnaissance et d'admiration.

A MADEMOISELLE C. MARNAY

Maitre de Recherches au C.N.R.S.

Qui a supervisé les recherches effectuées dans notre expérimentation.

A MONSIEUR DUPUY

Maitre de Recherches à l'I.N.R.A.

Qui a permis ce travail en mettant à notre disposition l'irradiateur au Cobalt 60 de la Station de Technologie Végétale de la "Sablière" à Versailles.

INTRODUCTION

Ière PARTIE : GENERALITES : Action des radiations ionisantes sur les aliments.

I. Principe

II. Technologie

III. Mécanisme d'action des radiations ionisantes

IV. Devenir des différents constituants alimentaires après irradiation

1) protéines

2) lipides

3) glucides

4) enzymes

5) vitamines

IIème PARTIE : BILAN DES ETUDES faites à ce jour sur l'irradiation vitaminique K

IIIème PARTIE : EXPERIMENTATION : Irradiation de solutions vitaminiques K et résultats obtenus par dosage biologique sur des rats carencés

I. Source de rayonnement utilisée

II. Principe du dosage utilisé

III. Protocole expérimental

IV. Résultats obtenus après injection de 5 γ de vitamine K irradiée et non irradiée à deux groupes de rats

V. Résultats obtenus après injection de 2 γ de vitamine K

VI. Résultats obtenus après injection de 1 γ de vitamine K

VII. Injection du solvant seul

VIII. Interprétation des résultats obtenus

IX. Chromatographie

CONCLUSION

BIBLIOGRAPHIE

-:-:-:-:-

# I N T R O D U C T I O N

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

La conservation des aliments est actuellement un problème d'ordre international dont l'importance est chaque jour grandissante.

Il est évident que des délais de conservation accrus des différents produits alimentaires permettraient un stockage plus important, un transfert à plus grande distance, une consommation plus régulière qui contribueraient certainement à une meilleure répartition des ressources alimentaires et à une amélioration de la sous-alimentation si aigue dans certains pays.

C'est donc dans un but scientifique mais aussi économique et social que la conservation des aliments par irradiation a été entreprise depuis bientôt une quinzaine d'années. Ainsi les Etats-Unis ont commencé de vastes recherches en ce domaine. D'autres pays les ont imités et en France différentes investigations sont en cours.

Mais les différents résultats obtenus jusqu'à maintenant ne permettent pas encore de dresser un bilan positif définitif de la question, et obligent les pouvoirs publics à beaucoup de prudence avant d'accorder l'autorisation d'utiliser ce nouveau procédé de conservation alimentaire.

En effet de nombreuses difficultés sont apparues au cours des expérimentations :

- d'une part le procédé est actuellement rarement compétitif du point de vue financier avec les méthodes classiques de conservation, aspect non négligeable de la question si l'on considère que son application pourra se faire sur une vaste échelle.
- d'autre part, s'il est indéniable que les radiations ionisantes protègent les aliments grâce à leur action destructrice sur les micro-organismes, il est cependant apparu parfois au cours des irradiations des modifications (changement de viscosité, d'odeur, de goût ...) interdisant la consommation et rendant compte des effets chimiques induits.

Le principal problème est donc de juger de la comestibilité des aliments irradiés. Pour cela deux études principales sont nécessaires :

- la toxicité aigue et chronique;
- le pouvoir nutritionnel.

En ce qui concerne les essais de toxicité (3), au moins deux espèces d'animaux doivent être mises à l'épreuve : des rongeurs (100 au minimum) et des mammifères plus évolués : chiens, porcs ou singes (12 au minimum). Quatre groupes sont constitués (mâles et femelles alimentés en nourriture irradiée et non irradiée) pour permettre les comparaisons statistiques. La nourriture irradiée est introduite dans la ration alimentaire sous la dose la plus élevée possible tout en maintenant l'équilibre indispensable des divers éléments.

La toxicité à court terme est étudiée sur 10 % au moins de la durée de vie de l'animal : 90 jours chez le rat, 12 mois chez le chien et le porc.

Les essais à long terme s'étendent sur la vie entière de l'animal, plus d'une génération (4 générations). Les observations à relever portent sur :

- l'aspect général
- le comportement
- la quantité consommée
- les modifications hématologiques
- la chimie du sang et de l'urine
- la lactation
- la mortalité
- l'examen des principaux organes

En ce qui concerne le pouvoir nutritionnel, de nombreuses recherches ont déjà été effectuées qui, certes, ont montré des modifications de la valeur nutritive de certains aliments, mais dans des proportions voisines de celles obtenues après les traitements classiques. Toutefois la pleine lumière n'a pas encore été faite en ce domaine, et il est ainsi intéressant, par exemple, de savoir si les radiations ionisantes effondrent les taux de vitamines dans les aliments, ou tout au moins dans quelle mesure elles peuvent diminuer les teneurs vitaminiques des denrées.

Avant d'aborder ce problème qui nous intéresse plus particulièrement dans le cadre de ce travail, nous allons dresser brièvement un panorama général de nos connaissances actuelles en matière d'irradiation alimentaire.

-:-:-:-

# Ière PARTIE : GENERALITES

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

## ACTION DES RADIATIONS IONISANTES SUR LES ALIMENTS

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

### I. Principe

Les principales causes de destruction des aliments sont biologiques. Les radiations ionisantes sont capables de détruire les insectes et les microorganismes responsables des dégradations des denrées alimentaires.

Ainsi les radiations ionisantes provoquent : (2)

- la mort des hommes et animaux supérieurs pour des doses de l'ordre de 1000 Rads
- l'inhibition de la germination des pommes de terre 10000 Rads
- destruction des helminthes 10000 à 25000 Rads
- arrêt de la reproduction des insectes 15000 à 35000 Rads
- mort de la plupart des insectes et des bactéries (pasteurisation) 100000 à 1000000 Rads
- mort de tous les insectes, bactéries et virus (stérilisation) 1500000 à 5000000 Rads
- destruction des enzymes 5000000 à 10000000 Rads

## II. Technologie (3) (8)

L'irradiation est en général effectuée à l'aide de sources radioactives $\gamma$.

Le radioélément le plus utilisé est le COBALT 60.

Ses caractéristiques sont les suivantes :

- Période : 5,2 ans
- Sa désintégration $\beta^-$ provoque l'émission de 2 $\gamma$ de 1,17 et 1,33 MeV.

Rappelons que l'énergie rayonnée par les sources radioactives est exprimée en Mégaélectronvolts (MeV)

- 1 électronvolt est l'énergie cinétique acquise par 1 électron soumis à une différence de potentiel de 1 volt.

1 eV = $1,6.10^{-12}$ ergs = $4,45.10^{-26}$ KWH.

Cette énergie est absorbée de façon inégale par les différents milieux qu'elle traverse.

- l'absorption par gramme de milieu est exprimée en Rads

1 Rad = absorption de 100 ergs/gramme ($6,24.10^7$ MeV)

Mais les quantités d'énergie mises en jeu sont extrêmement petites et n'interviennent qu'indirectement sur la matière vivante. Le mécanisme primaire d'action est la formation d'ions, l'efficacité étant d'autant plus grande que la densité d'ionisation est plus grande. C'est ainsi qu'on utilise le REM (Roentgen équivalent man) qui tient compte de l'efficacité biologique relative EBR des différents rayonnements sur l'homme les uns par rapport aux autres.

- EBR : pour rayonnements $\beta$, $\gamma$, rayons X = 1
  pour neutrons thermiques = 5
  pour neutrons rapides, protons = 10
  pour rayonnement $\alpha$ = 20

- le REM = produit de l'absorption en Rads par EBR.

Le degré d'un effet biologique des radiations ionisantes est donc plus exactement prévisible à partir de la dose administrée si l'on tient compte non seulement de l'énergie absorbée par gramme de matière irradiée, mais aussi du coefficient EBR de la radiation utilisée.

III. Mécanisme d'action des radiations ionisantes (3)

Au niveau atomique, les radiations ionisantes agissent donc par formation d'ions ou arrachement d'électrons.

Si l'énergie est suffisante, les électrons émis vont à leur tour ioniser ou exciter d'autres atomes, ce qui déclenche des chaines de réactions chimiques successives.

Il peut se produire, par les neutrons, une ionisation indirecte. Ceux-ci peuvent en effet être captés et provoquer la formation de noyaux composés qui deviennent d'éventuelles sources de rayonnement.

Mais existe-t-il une radioactivité induite, un risque d'activité résiduelle dans les aliments irradiés ?

Il semble que l'on puisse être catégorique sur ce terrain. En effet, toute radioactivité induite exige une énergie suffisante, supérieure à un seuil d'environ 10 MeV. Or les aliments sont toujours irradiée en dessous de 10 MeV, ce qui élimine pratiquement tout danger de radioactivité induite.

Au niveau moléculaire, on observe quelques effets de cible par choc direct et rupture : par exemple dissociation de l'eau en ses deux radicaux H et OH qui, ne pouvant subsister à l'état libre, réagissent sur d'autres molécules d'eau pour donner de l'eau oxygénée ou attaquent les substances dissoutes organiques par oxydation (radical OH) ou réduction (radical H)

Mais le plus souvent, la molécule organique est attaquée dans sa structure (par exemple apparition ou disparition des doubles liaisons aboutissant à la formation de nouveaux composés).

Types de réactions obtenues par dissociation de l'eau avec les photons X ou Y : (8)

1) réactions primaires :

- en présence ou non d'oxygène dans le milieu :

$$H_2O \longrightarrow H_2O^+ + e^-$$

ionisation de la molécule d'eau

$$H^2O^+ \xrightarrow{H_2O} H^+ + O^\bullet H$$

ion hydrogène hydraté — radical libre hydroxyle

$$e^- \xrightarrow{H_2O} H_2O^- \xrightarrow{H_2O} OH^- + H^\bullet$$

ion hydroxyle hydraté — radical libre

- en présence d'oxygène dissous dans le milieu :

$$H_2O + O_2 \xrightarrow{\text{Radiation}} O^\bullet H + O_2^\bullet H$$

radical libre perhydroxyle

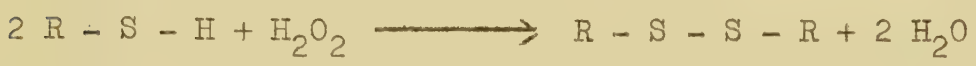
$$O^\bullet H + O^\bullet H \longrightarrow H_2\ O_2$$ eau oxygénée

$$O_2^\bullet H + O^\bullet{}_2H \longrightarrow O_2 + H_2\ O_2$$

biradical libre

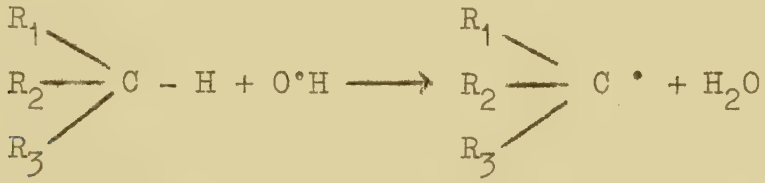
2) puis réactions secondaires :

- oxydation simple - - -→ perte d'activité biologique pour les enzymes porteurs de groupes -S-H

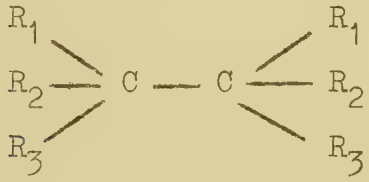


forme active — forme inactive

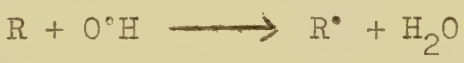
- production de radicaux libres Carbonium

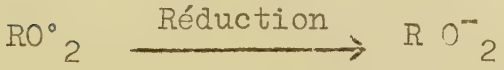


et éventuellement association



- formation en présence d'oxygène d'hydroperoxydes





Hydroperoxyde

## IV. Devenir des différents constituants alimentaires après irradiation (1) (3) (4) (5) (9) à (18)

1) les protéines subissent des changements de viscosité. Elles deviennent plus sensibles à la chaleur. On peut obtenir des dégagements gazeux indésirables (ammoniac, hydrogène sulfuré).

Notons cependant que le pouvoir nutritionnel ne varie pratiquement pas aux doses courantes.

2) les lipides réagissent avec l'oxygène pour donner des peroxydes provoquant l'apparition d'une odeur rance caractéristique. Ceci serait lié à la dégradation de la vitamine E antioxydante.

3) les glucides sont en général dépolymérisés et fractionnés en unités plus petites (qui sont d'ailleurs plus facilement utilisables).

4) les enzymes sont inactivés entre 5 et 10 Mrads.

5) les vitamines enfin sont sensibles aux radiations ionisantes. A première vue, leur comportement semble être comparable après irradiation et après conservation par les procédés traditionnels.

Ainsi si l'on dresse un tableau des rétentions vitaminiques après conservation traditionnelle et irradiation, on constate peu de changements notables, sauf pour la vitamine K et à un degré moindre pour la vitamine E.

Dans le tableau (1) ci-joint, on a figuré quelques rétentions vitaminiques en pourcentage de la teneur initiale dans l'un

et l'autre cas (3). L'irradiation a été estimée à 3 Mrads (Mégarads)

TABLEAU 1

| | Appertisation | Irradiation |
|---|---|---|
| Thiamine | 35 % | 35 % |
| Riboflavine | 80 % | 80 % |
| Pyridoxine | 70 % | 75 % |
| Niacine | 75 % | 75 % |
| Acide Folique | 70 % | 90 % |
| Vitamine A | 80 % | 75 % |
| Vitamine E | 90 % | 75 % |
| Vitamine K | 90 % | 15 % |

D'une manière générale, sont franchement radiosensibles : (1)

- Acide Ascorbique
- Thiamine
- Cobalamine
- Vitamine A et B carotène
- Vitamine E
- Vitamine K

A un degré moindre :

- Pyridoxine
- Acide Nicotinique

Ne semblent pas radiosensibles :

- Riboflavine
- Vitamine D

Enfin nous ne possédons pas de renseignements suffisants concernant :

- Acide Pantothénique
- Biotine
- Acide Folique

Insistons sur le fait que, en examinant un peu plus en détail le comportement de chaque vitamine vis à vis des radiations ionisantes, il est très difficile d'établir des règles rigoureuses car de nombreux facteurs interviennent :

- les doses d'irradiation
- la sensibilité propre de chaque vitamine
- la concentration vitaminique
- la forme sous laquelle on irradie la vitamine (forme libre ou combinée)
- enfin les conditions de milieu peuvent influencer fortement les résultats : présence d'eau, d'oxygène, radiations lumineuses, agents protecteurs des vitamines, pH ...).

Toutefois certains points méritent d'être soulignés. C'est sur la vitamine C que les recherches ont été les plus complètes jusqu'à maintenant (1).

- On a ainsi observé que, après irradiation, les pertes semblent plus importantes dans les solutions pures que dans les aliments. Ainsi la radiosensibilité de la vitamine C est moins grande dans les milieux biologiques (jus de fruits). Il existerait donc des facteurs protecteurs naturels.

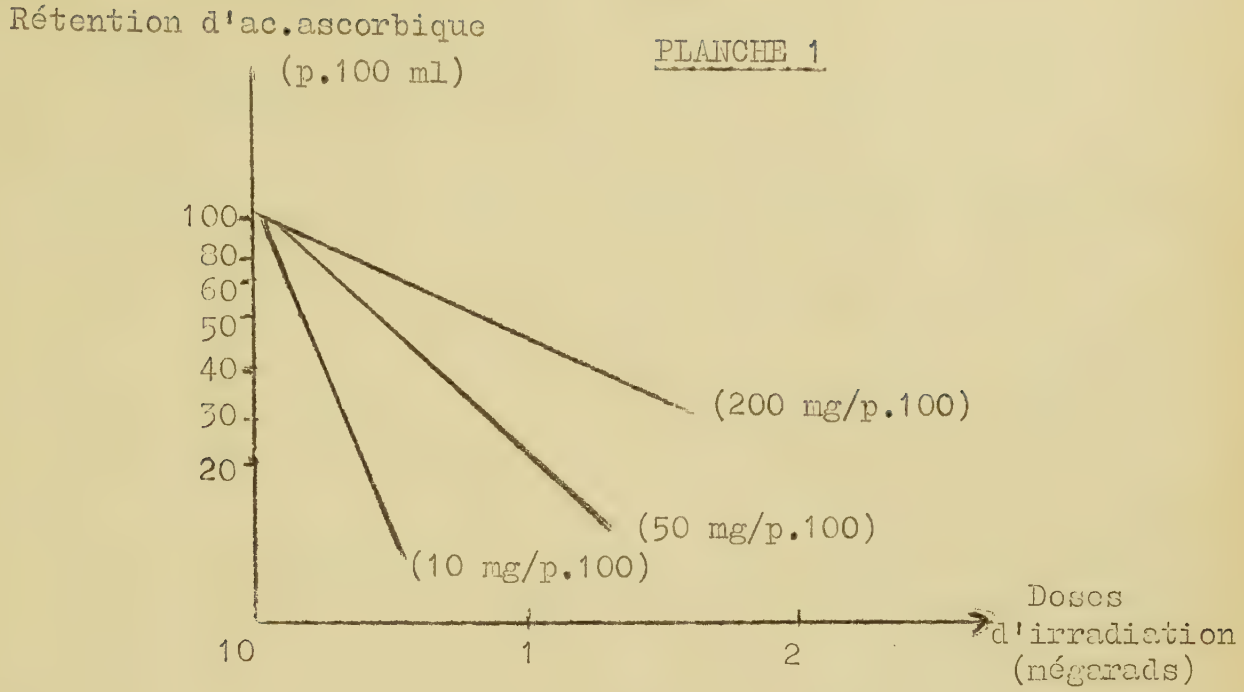
- Les radiations ionisantes pourraient peut-être avoir un effet de synthèse dans certains cas : ainsi l'acide glycuronique obtenu par irradiation du glucose peut se transformer en acide ascorbique sous l'action des radiations ionisantes à faibles doses. Certains travaux font état d'une augmentation de teneur en vitamine C des légumes après irradiation appropriée (20.000 à 50.000 Rads). S'agirait-il d'une radiosynthèse résultant d'une action défensive du végétal ?

- La radiosensibilité de la Vitamine C varie avec la température et diminue en proportions notables à basse température.

- On a dressé divers types de courbes de rétention vitaminique C après irradiation. C'est ainsi que le pourcentage retrouvé après irradiation est lié à la concentration initiale, pour une dose donnée d'irradiation, par une loi exponentielle.

De même, la rétention, dans une solution de concentration initiale donnée est liée à la dose d'irradiation par une loi logarithmique.

PLANCHE 1




La vitamine B1 semble suivre les mêmes lois générales que la vitamine C vis à vis des radiations ionisantes.

L'acide nicotinique semble mieux résister que l'acide ascorbique et la thiamine aux fortes doses d'irradiation. Par contre sa radiosensibilité semble plus importante à basse température.

La vitamine B12 parait très sensible aux radiations ionisantes.

La vitamine A et le $\beta$ carotène semblent sensibles aux radiations ionisantes sans que l'on sache s'il s'agit d'une action directe ou par l'intermédiaire de composés néoformés.

La vitamine E serait particulièrement sensible : ainsi des expériences d'alimentation d'animaux par produits irradiés ont montré : (6)

- une limitation de la fertilité des mâles,
- et une augmentation de la mortalité dans les portées.

Ces phénomènes régressent par adjonction au régime d'$\alpha$ tocophérol.

Ces observations sont à l'appui de la thèse selon laquelle les processus d'irradiation sont de nature oxydante et facilitent la destruction des antioxydants type vitamine E.

Pour la vitamine K, on note que la vitamine K3 est plus radiosensible que les vitamines K1 et K5. D'autre part on a remarqué que les pertes vitaminiques K sont plus importantes dans l'irradiation des viandes que dans celle des végétaux à forte teneur en vitamine K (chou, épinard, luzerne) (7).

D'importants travaux américains ayant fait état d'effets hémorragiques obtenus chez le rat après consommation de viande de boeuf irradié, il nous est apparu indispensable d'essayer d'objectiver l'action des radiations ionisantes sur la vitamine K.

Mais avant de décrire les expérimentations auxquelles nous nous sommes livrés, il importe de dresser le bilan des études faites à ce jour sur cette question.

## IIème PARTIE

-:-:-:-:-:-:-

## BILAN DES ETUDES CONCERNANT L'IRRADIATION DE LA VITAMINE K

-:-:-:-:-:-:

individuelles et avaient accès librement à l'eau et à la nourriture. Les observations ont porté sur le comportement général des rats, sur leur croissance pondérale, sur les phénomènes hémorragiques apparus, sur les temps de prothrombine obtenus et sur la mortalité dont les causes ont été recherchées par autopsie.

Résultats obtenus (Tableau 2)

| Nombre de rats | Augment. Poids/jour | Morts par hémorragies |
|---|---|---|
| Boeuf non irradié | | |
| 20 mâles | 6,9 g ± 0,13 | 0 |
| 20 femelles | 4,9 g ± 0,15 | 0 |
| Boeuf irradié | | |
| 20 mâles | 6,7 g ± 0,34 | 14 |
| 20 femelles | 4,7 g ± 0,07 | 1 |

La I ère mort a eu lieu le 11ème jour après le début de l'alimentation. L'autopsie révéla un hémothorax et une hémorragie épididymaire. En 46 jours, 13 autres rats mâles moururent également et l'on découvrit hémothorax, hémorragies épididymaires, hémorragies sous-cutanées et hypertrophie du thymus. Chez la femelle morte pendant l'expérience, on retrouva un hémothorax abondant.

Après 46 jours d'alimentation, les rats mâles survivants furent exclus et le régime poursuivi pendant 34 jours pour les femelles sans qu'aucun trouble supplémentaire n'apparaisse.

Ce syndrome hémorragique fut retrouvé dans une série de 12 expériences identiques effectuées en vue de confirmer le phénomène.

Une deuxième série d'expériences fut alors entreprise pour déterminer si les syndromes hémorragiques observés étaient imputables à l'irradiation proprement dite ou si les procédés utilisés pour conserver cette viande irradiée pouvaient intervenir sur le phénomène. Quatre aliments d'expérimentation furent donc composés identiques au précédent, mis à part le boeuf incorporé évidemment.

Dans l'aliment I, on utilisa du boeuf irradié qui avait été conservé pendant plus de 6 mois à 76° F (24,4° C).

Dans l'aliment II, du boeuf fraichement irradié fut utilisé.

L'aliment III fut l'aliment contrôle (boeuf non irradié).

Ces trois aliments furent conservés congelés pendant 4 semaines avant le début de l'expérience.

L'aliment IV fut composé comme l'aliment I mais non conservé congelé pendant les 4 semaines précédant l'essai. Il n'y eut donc pas de conservation fermée de cet aliment.

Ces 4 aliments furent donnés à des groupes de rats mâles pendant une période de 40 jours. Le tableau suivant a permis de conclure que les effets nocifs causés par l'absorption de boeuf irradié ne sont pas dûs seulement au procédé de conservation utilisé (Tableau 3).

| | Nombre de rats | Hémorragies |
|---|---|---|
| Aliment I | 9 | 9 |
| Aliment II | 9 | 2 |
| Aliment III | 6 | 0 |
| Aliment IV | 9 | 9 |

Une troisième série d'expériences fit alors intervenir des suppléments de vitamine K à doses croissantes pour essayer de corriger les troubles observés (30) (33) (Tableau 4)

| Boeuf utilisé | Supplément buccal en vitamine K3 | Nombre de rats | Morts par hémorragies |
|---|---|---|---|
| Boeuf non irradié | 0 | 10 | 0 |
| Boeuf non irradié | 1-3 γ K3/g. de régime | 4 | 0 |
| Boeuf irradié | 0 | 14 | 9 |
| Boeuf irradié | 1-3 γ K3/g. de régime | 14 | 0 |
| Boeuf irradié | 3 γ K3/jour | 8 | 0 |
| Boeuf irradié | 10 γ K3/jour | 8 | 0 |
| Boeuf irradié | 30 γ K3/jour | 8 | 0 |

Ce tableau nous montre qu'aucune hémorragie n'est survenue chez les rats nourris de boeuf non irradié, avec ou sans supplément de vitamine, leur croissance s'étant effectuée normalement.

Par contre, sur 14 rats nourris de Boeuf irradié sans supplément vitaminique, 9 sont morts entre 4 et 8 semaines.

D'autre part, un supplément buccal de vitamine K3 corrige spectaculairement les troubles observés.

Enfin nous constatons que 3 γ seulement de vitamine K3 suffisent à prévenir tout risque hémorragique chez le rat.

Une dernière expérience consista à comparer l'activité de la vitamine K3 en solutions aqueuse et huileuse. La même dose buccale de 3 γ suffit dans les deux cas à prévenir les hémorragies et à normaliser les temps de prothrombine.

Finalement, de ces premières investigations nous pouvons conclure que la consommation de boeuf irradié provoque chez le rat mâle un syndrome hémorragique, avec prolongation du temps de prothrombine et mort. La femelle parait curieusement moins sensible au phénomène. Enfin, un supplément vitaminique approprié prévient les troubles observés.

II) A partir de ces données essentielles, de nombreuses études furent alors entreprises.

On s'aperçut d'abord que les rats mâles sont très sensibles à l'hypovitaminose K. C'est ainsi que des régimes à base d'acides aminés synthétiques particuliers sont susceptibles de provoquer des syndromes hémorragiques chez le rat (63).

D'autre part, on obtient facilement une hypovitaminose K chez le rat en supprimant la synthèse bactérienne intestinale par ingestion de sulfamides ou d'antibiotiques.

Un autre facteur très important de la régulation des apports vitaminiques K chez le rat réside dans la coprophagie. En effet, le rat, par coprophagie est capable de régulariser lui-même ses besoins vitaminiques. C'est la raison pour laquelle une série d'expériences fut réalisée à l'aide de cages tubulaires spéciales dans lesquelles étaient enfermés les rats, cages qui supprimaient toute possibilité de coprophagie susceptible de fausser les résultats, sans empêcher la croissance normale des animaux (61).

A l'appui de ces constatations, il a été noté que le délai moyen de 4 semaines nécessaire pour obtenir des animaux carencés avec un régime où tout apport de vitamine K était supprimé, était considérablement raccourci si l'on prenait la précaution de stériliser le tube digestif des animaux et d'empêcher la coprophagie. En moyenne, ce délai a été ramené dans ces conditions à 1 semaine (27) (29) (31).

Les mêmes constatations ont été faites en ce qui concerne la synthèse intestinale bactérienne chez le singe Rhésus (62) et le poussin (25).

De ces constatations on déduit logiquement que la vitamine K n'est pas stockée, au contraire des autres vitamines liposolubles, et qu'il faut des apports quotidiens pour maintenir un taux suffisant.

Cette remarque offre beaucoup d'intérêt car on conçoit aisément qu'un régime où la seule source de vitamine K serait représentée par un apport quotidien de viande de boeuf irradié puisse être carentiel si les radiations ionisantes détruisent tout ou partie de la vitamine K.

D'autres études furent entreprises à la recherche d'éventuelles substances capables de provoquer des phénomènes hémorragiques par antagonisme avec la vitamine K.

C'est ainsi que l'on découvrit une certaine action de la vitamine A. Des hypothèses furent avancées à ce sujet, tendant à attribuer à la vitamine A une structure analogue aux composés type Dicoumarol qui sont directement antagonistes de la vitamine K. Mais rien n'a été concluant en ce domaine (64).

De même, la vitamine E, en favorisant la teneur du foie en vitamine A, jouerait un rôle certain dans les hypoprothrombinémies observées.

Un possible rôle des lipides, l'action de la méthionine (qui diminuerait les risques hémorragiques en l'absence de vitamine K) ont été également débattus (58).

Enfin, le rôle du sexe interviendrait certainement dans ces phénomènes hémorragiques (34) (57). C'est ainsi que la castration

de rats femelles a entrainé une sensibilité comparable à celle des mâles à l'hypovitaminose K. Le même résultat est obtenu par injection aux femelles d'hormones mâles. Inversement, la castration des mâles ou l'injection d'hormones femelles suppriment les possibilités d'hémorragies (35) (36) (53).

On voit donc qu'en réalité les problèmes soulevés par cette découverte de syndromes hémorragiques chez le rat mâle après régime contenant du boeuf irradié sont très complexes. Au moins ont-ils eu le mérite d'attirer l'attention sur le métabolisme encore bien mystérieux de la vitamine K. De nombreuses hypothèses ont été émises à ce sujet : action directe au niveau du foie sur la synthèse de la prothrombine, phosphorylation oxydante, transport d'électrons, autant de questions encore imparfaitement résolues mais qui débordent le cadre de ce travail (20) (22) (28) (37) (41 à 48) (50 à 56) (59).

Reste pour nous le problème de savoir si la viande de boeuf irradié utilisée dans les régimes auxquels étaient soumis les rats des premières expérimentations, intervient effectivement dans l'apparition des syndromes hémorragiques observés et, si oui, dans quelle proportion.

III) L'irradiation de la viande de boeuf pourrait en effet provoquer des troubles de la coagulation par 3 mécanismes différents :

- soit en induisant des réactions chimiques telles qu'on obtienne des substances antagonistes de la vitamine K.
- soit en détruisant purement et simplement la vitamine.
- soit en réduisant le rôle de la coprophagie par diminution de la teneur des fécès en vitamine K par exemple.

Des travaux ont été effectués dans ces 3 directions. En voici les résultats.

I - Possibilité d'apparition de substances antagonistes de la vitamine K

Trois régimes ont été composés avec des proportions croissantes de viande de boeuf irradié. Le régime A contenait 42 % de boeuf irradié (2,79 Mrads), le régime B en contenait 21,02 %, le régime C 10,5 % seulement. Le reste des régimes était composé en proportions convenables de protéine de soja, huile de maïs, saccharose, amidon, huile de foie de morue, huile de germe de blé, mélange de sels minéraux et glucose vitaminé (à l'exclusion de vitamine K bien sûr).

Ces 3 régimes furent administrés à 3 groupes de rats pendant une période de 3 semaines à la suite desquelles on conclut que l'aliment C contenant la plus faible proportion de viande de boeuf causait le plus d'hémorragies (32) (49) (Tableau 5).

| Aliments | Nombre de rats | Morts par hémorragies | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 1ère sem. | 2ème sem. | 3ème sem. | Total |
| A (42 %) | 8 | 0 | 0 | 2 | 2 |
| B (21,02 %) | 8 | 0 | 0 | 6 | 6 |
| C (10,5 %) | 8 | 1 | 3 | 2 | 6 |

Ces observations nous permettent d'affirmer que le boeuf irradié ne contient pas de composés capables de produire des hémorragies, sinon bien sûr l'importance du syndrome hémorragique augmenterait en proportion de la teneur des régimes en viande irradiée.

D'autre part, le mélange de protéine de soja et d'huile de maïs incorporé dans les régimes B et C pour compenser la moindre proportion de viande de boeuf se révèle être une source plus faible de vitamine K.

2 - Possiblité de destruction de la vitamine K

Si les radiations ionisantes sont responsables d'une destruction de la vitamine K, il devient très important d'en préciser le mécanisme et le pourcentage, sans quoi on ne peut évaluer les limites de sécurité à ne pas dépasser dans le cas d'une alimentation humaine à base de viande irradiée par exemple.

Des expérimentations rigoureuses ont été effectuées à ce sujet (33) (49). C'est ainsi que des études comparatives entre boeuf non irradié cuit et boeuf irradié cuit, entre porc non irradié cru et cuit et porc irradié cuit ont porté sur le pourcentage de

morts déterminées et les temps de prothrombine obtenus.

Tous les auteurs qui se sont intéressés à cette question pensent actuellement que la teneur de la viande de boeuf, normalement de 35 γ de ménadione/100 g., tombe à 14-16 γ /100 g. après irradiation.

Pour les aliments contenant 35 % de viande de boeuf comme seule source de vitamine K, l'irradiation réduirait l'importance de cette vitamine de 0,12 γ/g. de matière sèche (taux normal dans le boeuf non irradié) à environ 0,03 à 0,06 γ /g. de matière sèche. Or le besoin normal du rat semble être, pour prévenir tout danger d'hémorragies et maintenir constants les temps de prothrombine, de 0,1 γ /g. de matière sèche. Nous constatons donc qu'une alimentation basée sur de la viande de boeuf irradié comme seule source de vitamine K, se trouve nettement carentielle et peut expliquer en grande partie les phénomènes hémorragiques observés chez le rat.

Il faut rapprocher de ces différentes recherches celles qui ont été effectuées sur des aliments végétaux particulièrement riches en vitamine K. C'est ainsi qu'une étude comparative (39) a porté sur les teneurs vitaminiques K de légumes tels que épinards, broccoli, choux, asperges, haricots verts après divers procédés de conservation (froid, chaleur, irradiation à 2,79 Mrads et 5,58 Mrads). Il ressort de cette étude que l'irradiation n'entraine pas de variations notables des teneurs en vitamine K par rapport aux autres méthodes utilisées. La vitamine K semblerait donc beaucoup moins radiosensible dans les végétaux que dans la viande, sans

qu'on n'en connaisse d'ailleurs les raisons.

3 - Possibilité de réduction du rôle de la coprophagie.

Nous savons que la coprophagie joue un grand rôle chez le rat dans la régulation des apports vitaminiques K.

Une question importante pourrait être de savoir si l'alimentation par viande de boeuf irradié diminue la teneur des fécès en cette vitamine. Des recherches faites en ce sens semblent conclure par la négative. Les fécès de rats nourris de boeuf irradié contiennent de la vitamine K en proportions identiques à celles de rats soumis à un régime de boeuf non irradié.

Il semble cependant que la coprophagie soit diminuée dans les groupes de rats soumis aux régimes irradiés. Ceci peut être dû au fait que l'on trouve alors dans les fécès de longues chaines carbonyl. On comprend alors que les radiations ionisantes puissent agir par ce deuxième mécanisme en supprimant ou au moins en diminuant (49) un facteur non négligeable d'apport vitaminique chez le rat (62).

On comprend également que des singes soumis à des régimes identiques à ceux utilisés pour les rats, présentent des phénomènes hémorragiques moins sévères, la coprophagie n'intervenant pas dans cette espèce et la carence n'étant dûe qu'à la simple insuffisance alimentaire.

De ces diverses études, il ressort que les radiations ionisantes interviennent certainement dans la fréquence et l'importance

des syndromes hémorragiques obtenus aussi bien chez le rat mâle qu'à un degré moindre chez le singe et le poussin.

Il parait exclu que ces phénomènes hémorragiques soient obtenus par la formation de nouveaux composés antagonistes de la vitamine K.

Il semble plus probable que l'irradiation agisse directement par destruction pure et simple de la vitamine, et ce en proportions notables (diminution de moitié environ).

De plus, chez le rat tout au moins, cette destruction de la vitamine K, serait aggravée par "l'inhibition" de la coprophagie par formation de longues chaines carbonyl.

Mais il est indéniable que bien d'autres facteurs peuvent intervenir dans ces syndromes hémorragiques, (vitamine A, vitamine E, ...) Il nous a donc paru intéressant d'essayer de tester l'action isolée de la vitamine K irradiée par rapport à la vitamine K non traitée.

Le problème a été de trouver une méthode nous permettant de faire cette étude avec un maximum de précision.

Nous avons donc utilisé des rats que nous avons préalablement carencés en vitamine K par un régime approprié. Nous les avons ensuite soumis à un traitement correctif de cette carence par des injections à concentrations variables de vitamine K irradiée, toutes nos mesures étant effectuées par rapport à des lots témoins qui recevaient de la vitamine non irradiée.

Nous avons, dans les limites du possible, essayé d'éliminer un maximum de facteurs intercurrents susceptibles de modifier les résultats de notre expérimentation. Néanmoins il nous faut tenir compte évidemment des variations "physiologiques" inhérentes à tout dosage biologique.

# IIIème PARTIE : EXPERIMENTATION

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

## IRRADIATION DE SOLUTIONS VITAMINIQUES K ET RESULTATS OBTENUS

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

## PAR DOSAGE BIOLOGIQUE

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

### I - Source de rayonnement utilisée

Notre expérimentation a bénéficié du concours de Mr. DUPUY, directeur de recherches à la station de technologie végétale "La Sablière" à Versailles (I.N.R.A.) qui possède un irradiateur au Cobalt 60.

L'appareil est formé de douze crayons de Cobalt Radioactif disposés en couronne autour d'une chambre d'irradiation. Celle-ci est de forme cylindrique : 20,8 cm de haut pour un diamètre de 10,8 cm. Les échantillons sont introduits au moyen d'un piston dans la chambre d'irradiation.

Au moment de la construction de l'irradiateur, les radioactivités spécifiques des divers éléments des crayons ont été choisies pour obtenir un champ aussi homogène que possible.

La dosimétrie de cette source a été établie en utilisant l'oxydation du sulfate ferreux (dosimétrie de Fricke) suivant la technique de Sutton.

L'homogénéité du champ a été appréciée en suivant les modifications de densité optique dans du plexiglass irradié. On trouvera sur le tableau 6 les pourcentages d'écart par rapport à un point situé dans le plan équatorial de la chambre et choisi arbitrairement. On remarque que le champ présente 4 maxima et 2 minima. En superposant à ce canevas le schéma du récipient contenant les ampoules à irradier (planche 2), on peut avoir une idée de l'homogénéité de la dose reçue. Nous pouvons ainsi considérer que les écarts de doses reçues n'ont pas excédé $\pm$ 2 %.

Le calcul de la décroissance de la source en fonction du temps a donné les doses suivantes reçues dans la partie centrale du cylindre :

- 2,059 Krad/min. au mois de Janvier 1963
- 1,948 Krad/min. au mois de Juin 1963
- 1,802 Krad/min. au mois de Janvier 1964

La dose d'irradiation pour tous les échantillons utilisés a été de 1 Mégarad, et a été obtenue en faisant varier le temps d'irradiation.

L'irradiation s'est faite à température ambiante.

On trouvera dans la planche 3 le schéma de l'irradiateur au Cobalt 60 de la Station de la "Sablière".

La vitamine K utilisée a été la vitamine K1, forme naturelle de la vitamine K, présentée en ampoules de 1 ml. dosées à 20 mg. de vitamine K1, habituellement utilisées en thérapeutique en injections intra-musculaires. (DL 2 méthyl-3 phytyl- 1,4-naphtoquinone).

# T A B L E A U 6

## POURCENTAGES D'ECART DES DOSES RECUES DANS LA CHAMBRE PAR RAPPORT AU POINT CENTRAL O

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| + 5,9 | + 0,65 | - 2,9 | - 5,2 | - 6,3 | - 4,5 | - 3,2 | - 0,9 | - 0,3 |
| + 12,1 | + 7,7 | + 3,4 | + 0,9 | + 0,2 | + 0,6 | + 4,2 | +10,7 | +11,9 |
| + 7 | + 4,4 | + 2,9 | + 0,8 | + 0,12 | + 0,26 | + 2,6 | + 5,1 | + 3,9 |
| - 1,3 | + 1,05 | - 0,65 | 0 | - 2,1 | - 2,7 | - 0,26 | - 0,11 | - 5 |
| - 0,12 | + 2,2 | + 0,26 | + 0,12 | + 0,8 | - 0,26 | + 0,12 | - 0,62 | - 3,2 |
| + 9,3 | + 7,7 | + 5,8 | + 0,9 | + 1,08 | + 1,7 | + 4,3 | + 5,7 | + 6,6 |
| + 13,6 | + 8,2 | + 0,8 | + 1,05 | + 1,08 | + 2,1 | + 3,5 | + 9,1 | +11,4 |
| + 2,3 | - 1,7 | - 4,5 | - 6,05 | - 5,9 | - 6,8 | - 4,2 | - 3,1 | - 0,5 |

PLANCHE 2

Schéma du récipient contenant les ampoules à irradier

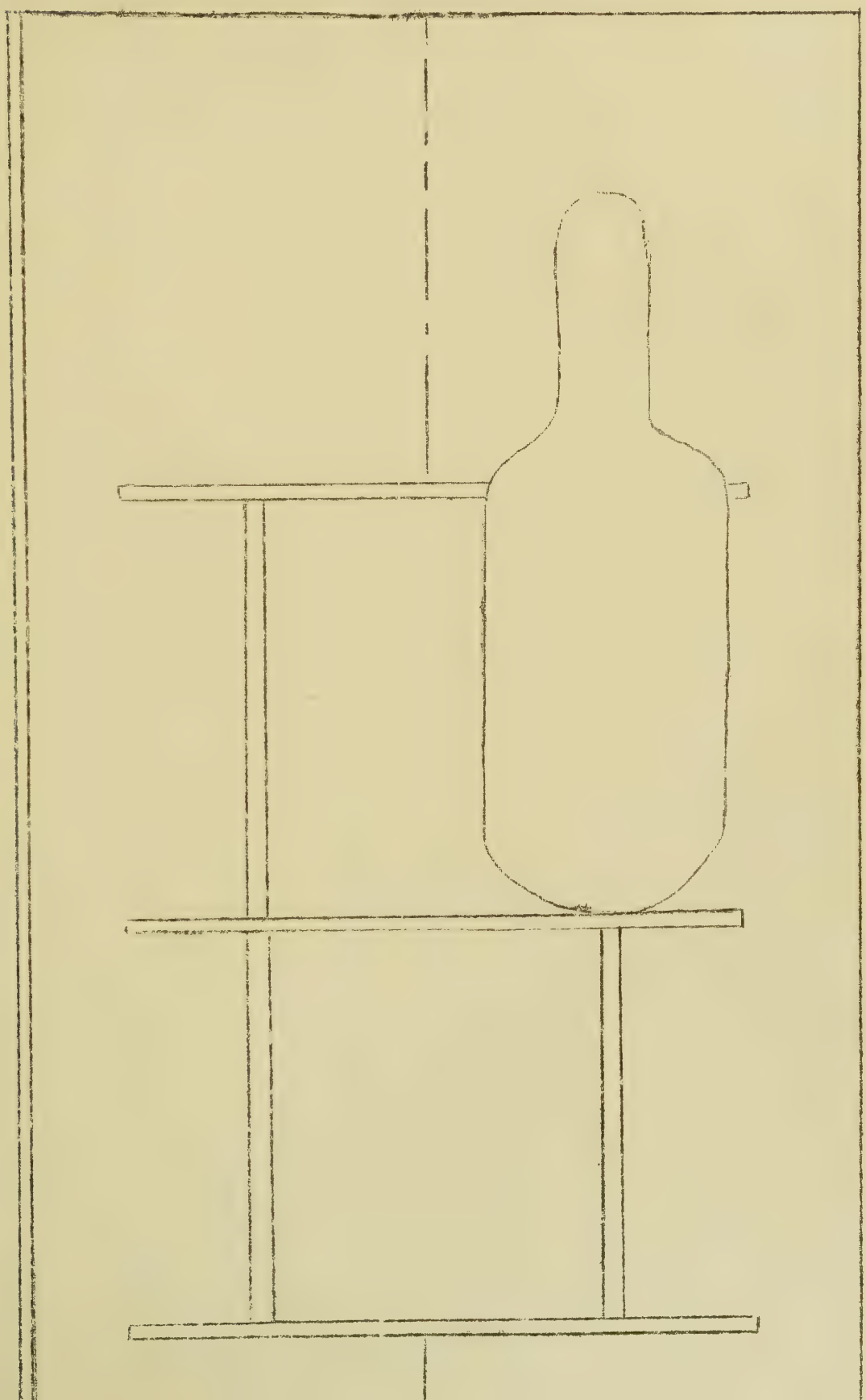
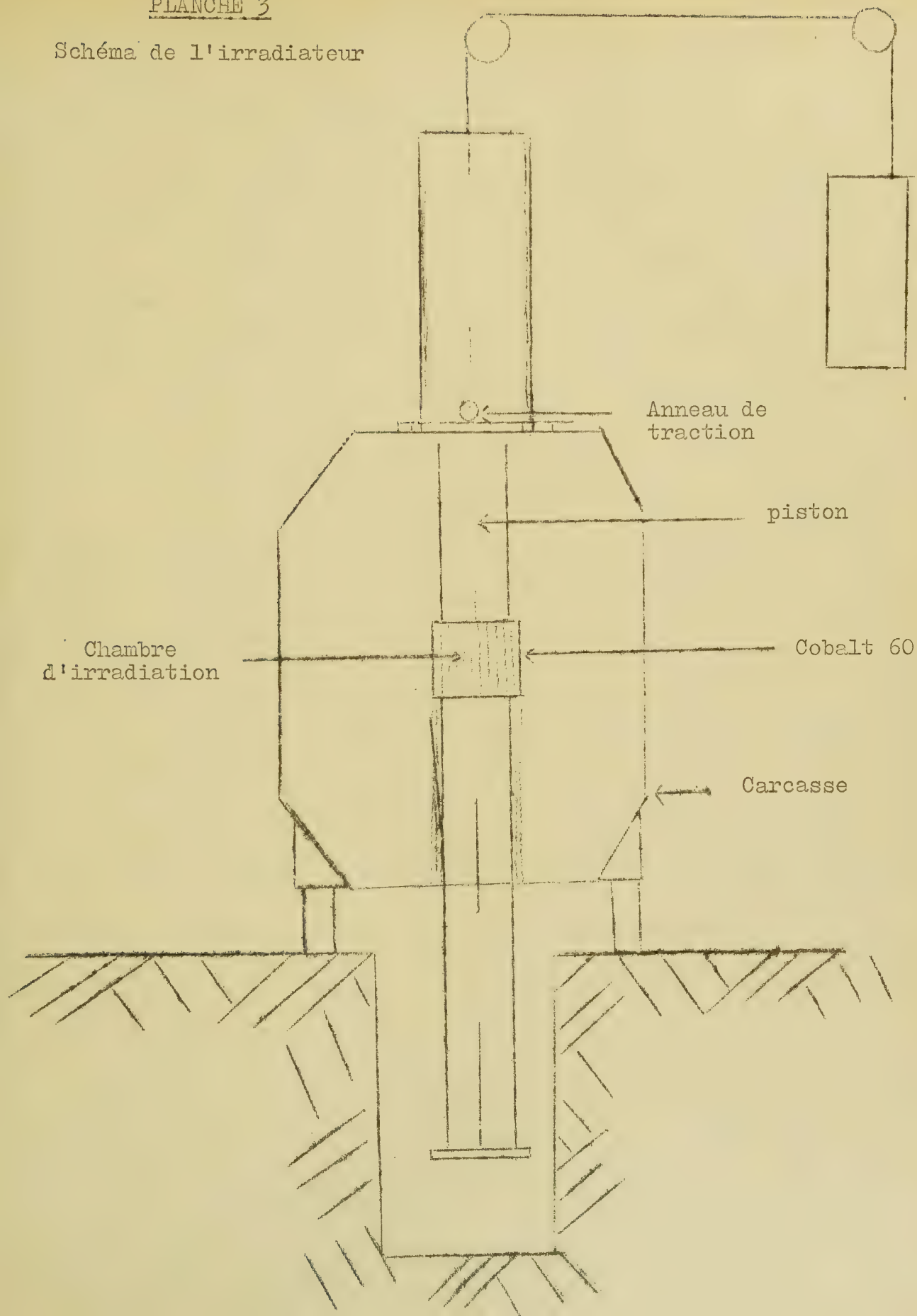


PLANCHE 3

Schéma de l'irradiateur



## II - Principe du dosage utilisé

Notre propos a été d'étudier le comportement de la vitamine K1 en solution pure vis à vis des radiations ionisantes.

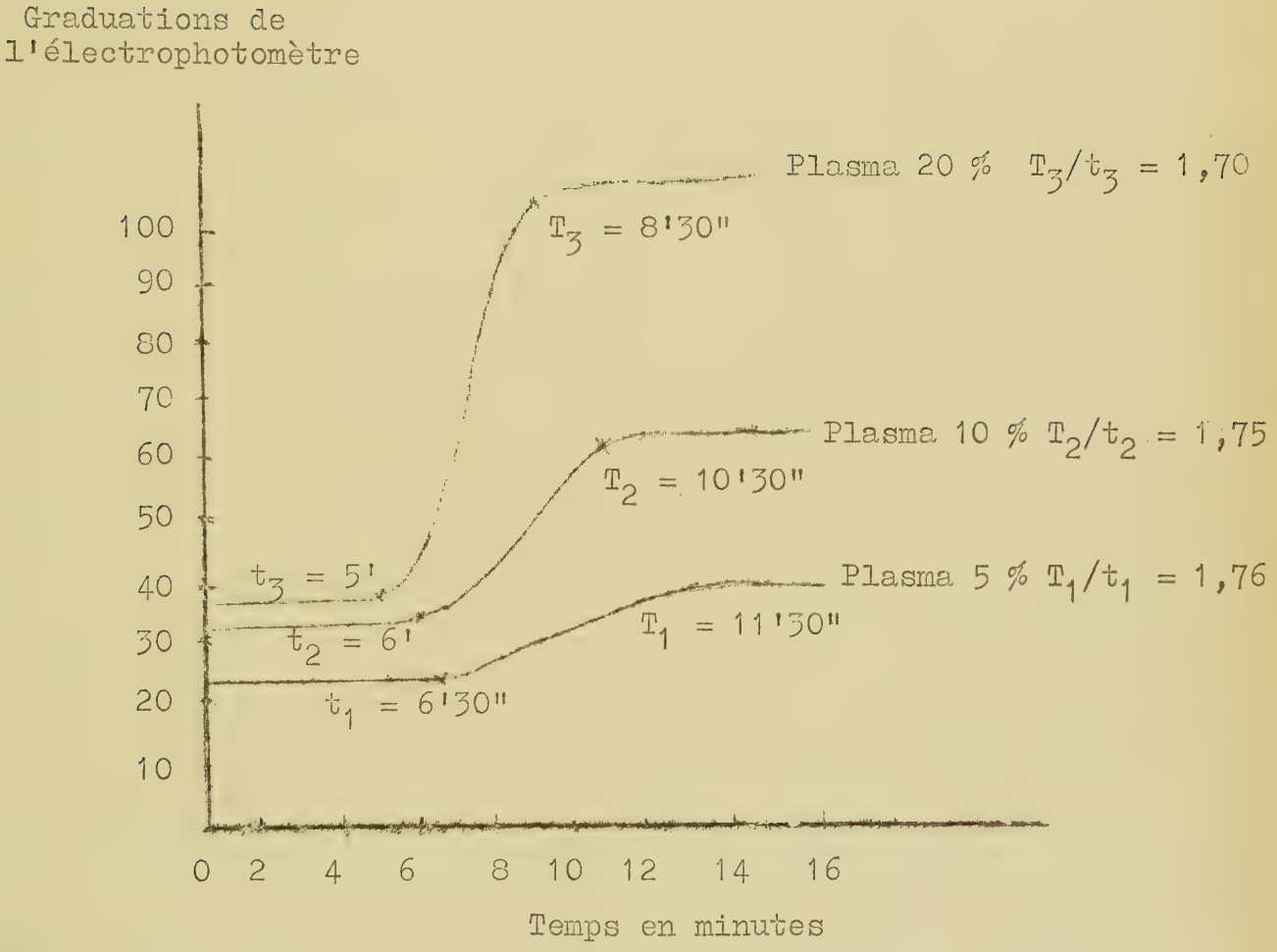
Pour cela nous avons utilisé un dosage biologique de la vitamine K (65), selon la méthode de Raoul et Hanna , et sous la supervision de Melle Marnay.

Cette méthode repose sur l'étude photométrique de la coagulation du sang (méthode de MEUNIER).

On obtient ainsi des courbes de coagulation plasmatique (Planche 4) en fonction du temps. Ces courbes se caractérisent par :

- le temps t à partir duquel commence la coagulation,
- le temps T où celle-ci se termine,
- la différence T-t = $\Delta$t représentant la durée de la coagulation,
- le nombre de divisions de l'électrophotomètre correspondant à la coagulation, h = hauteur de la courbe,
- le coefficient T/t relativement fixe pour un sang normal, quelle que soit la concentration plasmatique utilisée (1,55 à 1,75).

PLANCHE 4




Courbes de coagulation photométriques du plasma du rat normal à diverses concentrations (d'après Raoul HANNA)

L'animal utilisé dans cette méthode est le rat.
Le rat doit peser de 100 à 150 grammes. Il reçoit un régime de carence en vitamine K composé de :

- "Ratigène" 100 g.
- Sulfadiazine 0,5 g.
- Huile de paraffine 7 g

La Sulfadiazine est destinée à stériliser la flore intestinale responsable de la synthèse de la vitamine K.

L'huile de paraffine empêche l'absorption intestinale de la vitamine K susceptible d'être apportée par le régime.

La carence s'établit au bout d'une semaine environ. Elle est vérifiée par la mesure de l'opacité du plasma.

On remarquera l'allure biphasique des courbes de carence par rapport aux courbes normales. (Planche 5)

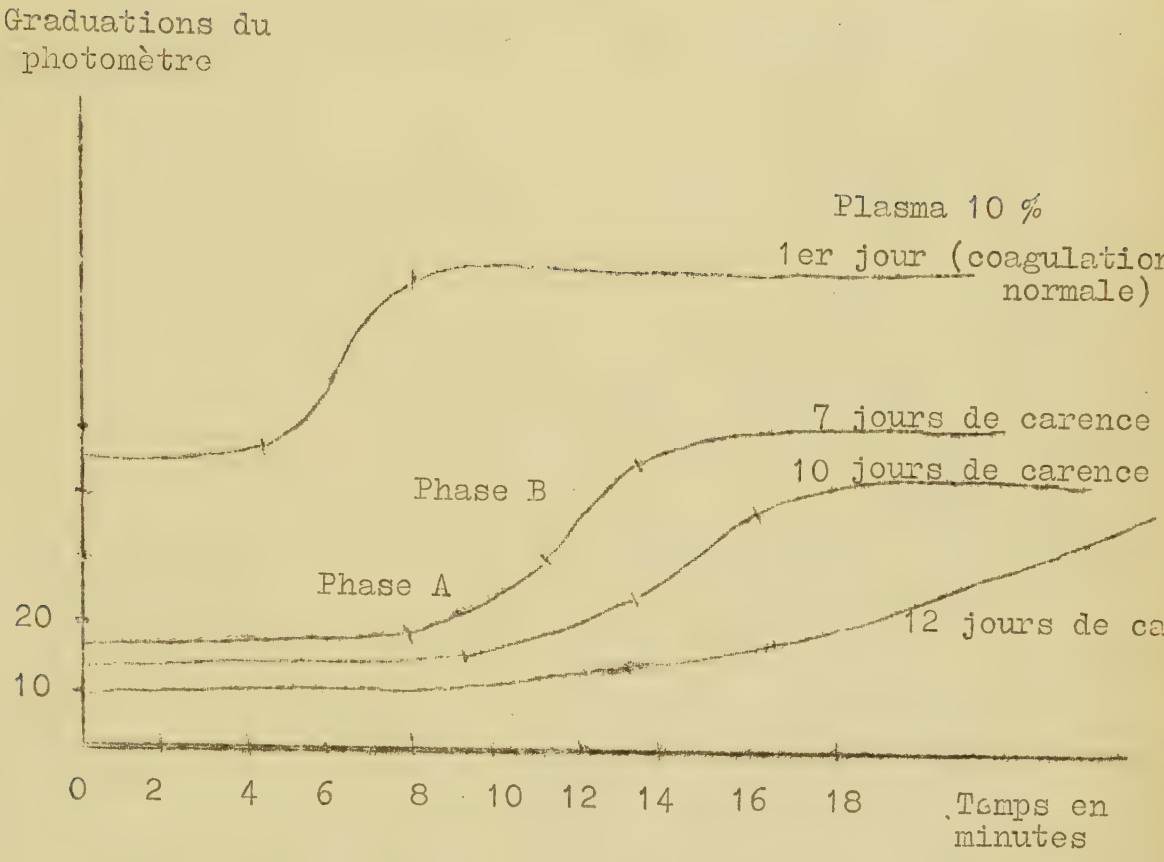
On notera également au fur et à mesure de l'établissement de la carence,

- la diminution progressive de la valeur hI et l'aplatissement des courbes.
- l'augmentation du temps t et le déplacement des courbes vers la droite.

Ces différentes variations traduisent une coagulation imparfaite et retardée dans le temps.

Précisons enfin que le prélèvement sanguin est effectué par ponction cardiaque.

PLANCHE 5




Progression de la carence d'après les courbes de coagulation plasmatique

III - Protocole expérimental

Notre expérimentation a porté sur 43 rats.

Ceux-ci ont tous reçu un régime de carence à base de :

- sulfamides destinés à stériliser la flore intestinale responsable de la synthèse de la vitamine K
- huile de paraffine destinée à empêcher l'absorption intestinale de la vitamine K.

Une fois la carence établie et vérifiée par la mesure de l'opacité plasmatique par la méthode de Meunier (courbes de coagulation en fonction du temps pour des dilutions de 5 % et 10 % de plasma) il a été injecté des doses variables de vitamine K irradiée et non irradiée.

On peut ainsi diviser en 7 groupes la population totale de rats utilisés :

- 3 groupes ont reçu une injection de vitamine K irradiée
- 3 groupes ont reçu une injection de vitamine K non irradiée et ont donc constitué le lot témoin
- 1 groupe enfin a reçu une injection du solvant seul utilisé dans la préparation de la solution de vitamine K que nous avons employée.

Le Ier Groupe composé de 7 rats portant les numéros :

1a, 4a, 5a, 6a, 22, 37, 38

a reçu après carence une injection de 5 γ de VITAMINE K NON IRRADIEE et des courbes de coagulation ont été dressées pour des dilutions plasmatiques de 5 % et 10 %, le prélèvement sanguin ayant été

effectué une douzaine d'heures après l'injection.

Le IIème Groupe composé de 7 rats également portant les numéros :

2a, 3a, 7a, 8a, 21, 23, 39

a reçu après carence une injection de 5 γ de VITAMINE K IRRADIEE et des courbes ont été construites dans les mêmes conditions pour les mêmes dilutions plasmatiques de 5 % et 10 %.

Le IIIème Groupe composé de 4 rats portant les numéros :

1b, 6b, 8b, 10

a reçu toujours après carence une injection de 2 γ de VITAMINE K NON IRRADIEE et des courbes ont été faites avec 5 % et 10 % de plasma.

Le IVème Groupe composé de 5 rats portant les numéros :

2b, 4b, 5b, 9, 11

a reçu dans les mêmes conditions une injection de 2 γ de VITAMINE K IRRADIEE et des courbes similaires ont été établies.

Le Vème Groupe composé de 5 rats portant les numéros :

13, 16, 20, 40, 43

toujours après carence a reçu une injection de 1 γ de VITAMINE K NON IRRADIEE et là aussi des courbes de coagulation ont été tracées pour les dilutions plasmatiques de 5 % et 10 %.

Le VIème Groupe composé de 4 rats portant les numéros :

15, 18, 19, 42

a reçu une dose de 1 γ de VITAMINE K IRRADIEE

Le VIIème et dernier Groupe composé de 11 rats portant les numéros :

26, 27, 28, 30, 30 bis, 31, 32, 33, 34, 35, 36

a reçu après carence le solvant isolé de la préparation de vitamine K utilisée et là encore on a dressé des courbes pour les deux dilutions plasmatiques de 5 % et 10 %.

Nous avons ainsi pensé, en assignant à notre travail des limites précises et relativement restreintes, pouvoir espérer établir des résultats homogènes et assez facilement interprétables.

Toutefois, il ne faut pas perdre de vue qu'il s'est agi dans notre expérimentation d'un dosage biologique de la vitamine K et que par conséquent, malgré toutes les précautions dont nous nous sommes entourés (population de rats la plus homogène possible, délais d'expérimentation les plus brefs possibles ...), les résultats obtenus ne peuvent prétendre à une rigueur mathématique absolue.

IV - Résultats obtenus après injection de 5 γ de Vitamine K

Nous avons donc dans une première partie étudié les courbes de coagulation plasmatique sur deux groupes de rats, tous les deux carencés de la même façon et recevant après carence :
- le premier groupe une injection de 5 γ de vitamine K non irradiée
- le deuxième groupe une injection de 5 γ de vitamine K irradiée.

Notre premier souci a été de vérifier la carence vitaminique K des rats soumis à l'expérience.

Voici les moyennes des chiffres obtenus pour les différentes variables de la courbe de coagulation :

- pour des dilutions plasmatiques de 5 %, les moyennes du 1er groupe ont donné :

h1 (ordonnée à l'origine) = 26 divisions de l'électrophotomètre
t (temps de latence avant le début de la coagulation ) = 8'10"
T (fin de la coagulation) = 10'30"
h2 (correspondant à la fin de la coagulation) = 33,5 divisions

de ces données on déduit :

$\Delta t = T-t = 2'20"$

$h = h2-h1 = 7,5$ divisions

$T/t = 1,3$

- pour les mêmes dilutions de 5 % de plasma, les moyennes du 2ème groupe ont donné :

h1 = 30 divisions
t = 8'10"
T = 10'20"

h2 = 38 divisions

$\Delta$ t = 2'10"

h = 8 divisions T/t = 1,28

Nous voyons donc d'après ces premiers résultats que la carence semble relativement identique dans les deux groupes (voir les courbes moyennes). Ceci est très important, car nous allons pouvoir ainsi comparer les courbes de coagulation après injection de vitamine K non irradiée et irradiée plus facilement.

Le 1er groupe a reçu une injection de la solution correspondant à 5 $\gamma$ de vitamine K non irradiée, le 2ème groupe une injection semblable de vitamine provenant du lot irradié. Voici les chiffres moyens comparés : (tableau 7)

| | Ier groupe, vit. K non irradiée | IIème groupe, vit. K irradiée |
|---|---|---|
| - h1 | 33 div. | 37 div. |
| - t | 5'50" | 5'30" |
| - T | 8'10" | 8' |
| - h2 | 45 | 55 |
| - $\Delta$ t | 2'20" | 2'30" |
| - h | 12 | 18 |
| - T/t | 1,40 | 1,13 |

On trouvera dans la 6ème planche les courbes moyennes de carence et les courbes après injection de vitamine K pour les deux groupes I et II (dilutions plasmatiques à 5 %).

On remarquera sur cette planche que la vitamine K injectée a sans conteste normalisé dans les deux cas la coagulation plasmatique (temps de latence plus court, fin de la coagulation plus brève, dénivellation plus importante entre les deux plateaux de la courbe).

On tire des conclusions analogues de l'étude des coagulations effectuées avec des dilutions à 10 % de plasma (tableau 8) (planche7).

| | Ier groupe | | IIème groupe | |
|---|---|---|---|---|
| | carence | après injection | carence | après injection |
| - h1 | 30 | 34 | 30 | 37 |
| - t | 7'50" | 6'10" | 9' | 6' |
| - T | 10'40" | 9' | 12'30" | 9'50" |
| - h2 | 40 | 60 | 43 | 73 |
| - $\Delta$t | 2'50" | 2'50" | 3'30" | 3'50" |
| - h | 10 | 26 | 13 | 36 |
| - T/t | 1,36 | 1,46 | 1,39 | 1,64 |

Nous donnons à titre d'exemple dans les planches 8 et 9 les différentes courbes dressées avant (carence) et après injection de vitamine K pour l'ensemble des rats des groupes I et II à la dilution plasmatique de 10 %.

On notera en particulier l'allure souvent biphasique (cf.p.40-4 des courbes de carence, qu'on ne retrouve en aucun cas après injection tant de vitamine K irradiée que de vitamine K non irradiée.

D'une manière générale, une injection de 5 γ de vitamine K1, irradiée ou non, corrige les troubles de la coagulation plasmatique du rat soumis pendant une semaine à un régime de carence en vitamine K.

Cette correction dans l'un et l'autre cas n'exclut pas une possible destruction de la vitamine K par irradiation. En effet la dose de 5 γ injectée semble une dose relativement massive pour le rat et il se pourrait parfaitement que dans les injections de vitamine K irradiée il reste suffisamment de principe actif pour corriger les troubles. Il convient donc de poursuivre l'expérience avec de moindres quantités injectées. C'est pourquoi nous avons dressé des courbes analogues avec des doses de vitamine K de 2 puis 1 γ.

Nous pouvons toutefois tirer une conclusion positive de ces premiers résultats : l'irradiation ne semble pas provoquer une altération, à l'échelon moléculaire, sur la vitamine K, susceptible de produire des composés nouveaux antagonistes de la vitamine type Dicoumarol qui au contraire de nos résultats auraient aggravé la carence des animaux. Cette remarque confirme d'ailleurs les travaux américains (32) effectués dans ce sens sur de la viande de boeuf irradié.

PLANCHE 6

Courbes schématiques moyennes de la coagulation plasmatique (à 5 % de dilution) avant et après injection de 5 % de vitamine K irradiée (II) et non irradiée (I)

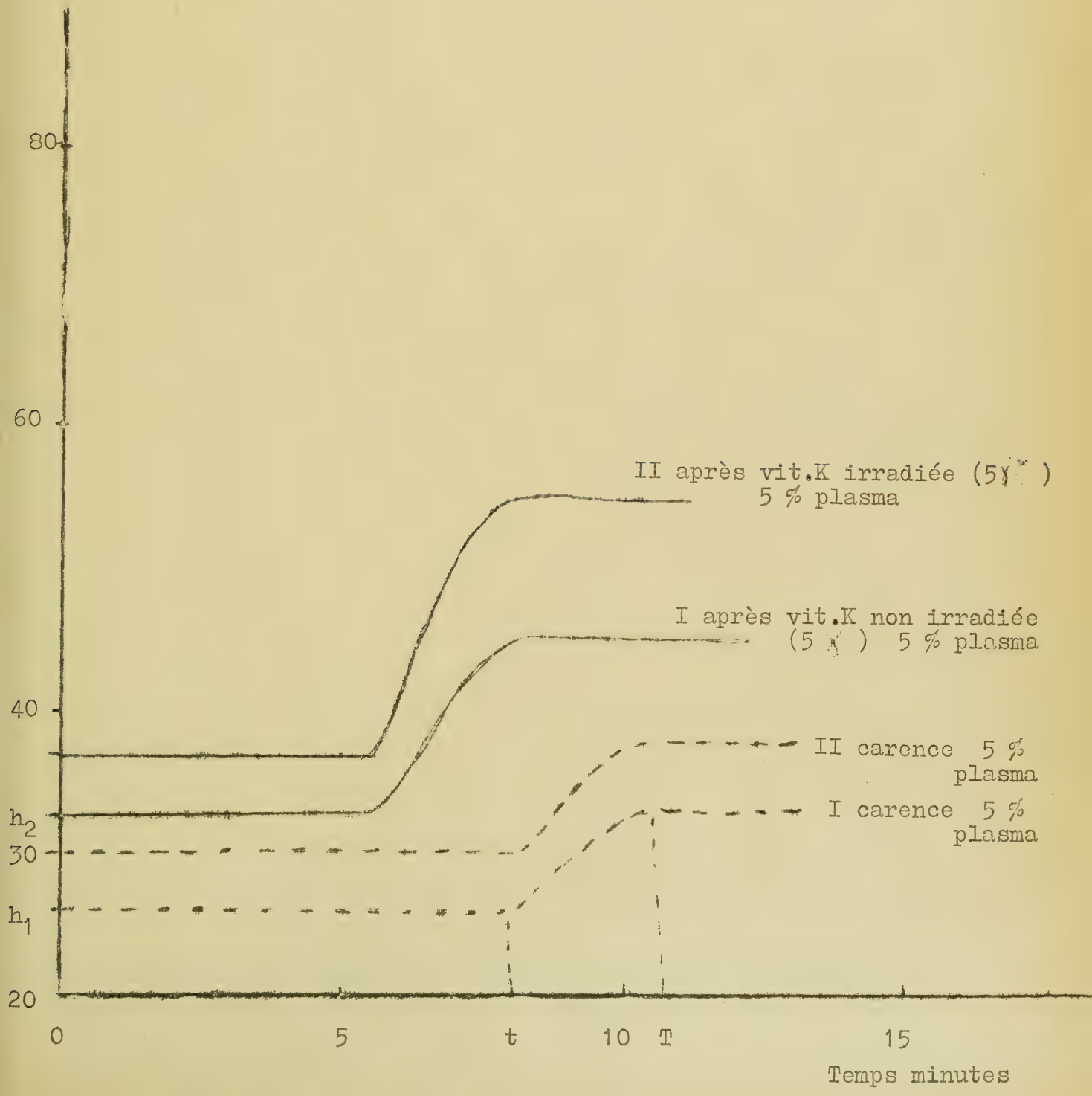
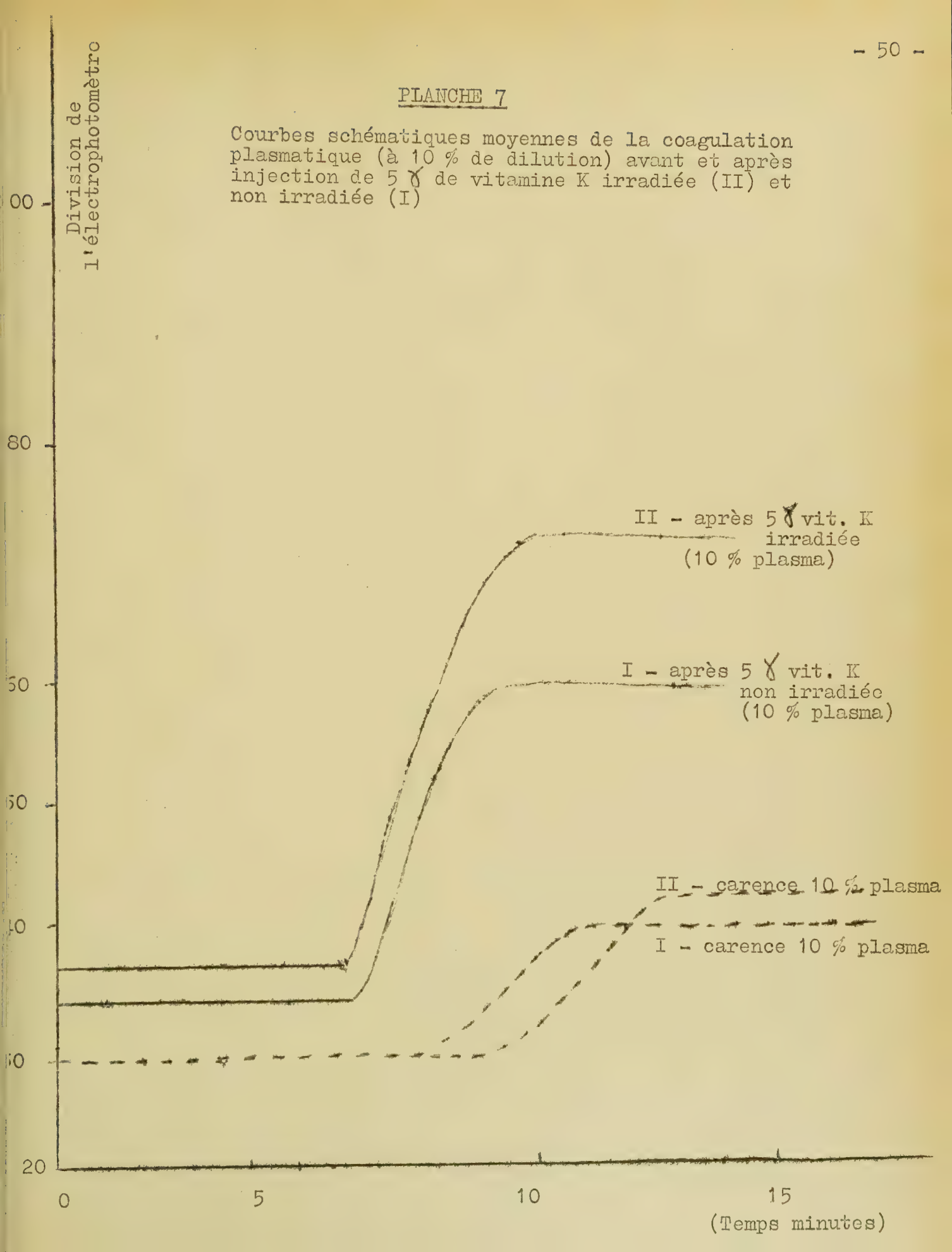


PLANCHE 7

Courbes schématiques moyennes de la coagulation plasmatique (à 10 % de dilution) avant et après injection de 5 γ de vitamine K irradiée (II) et non irradiée (I)



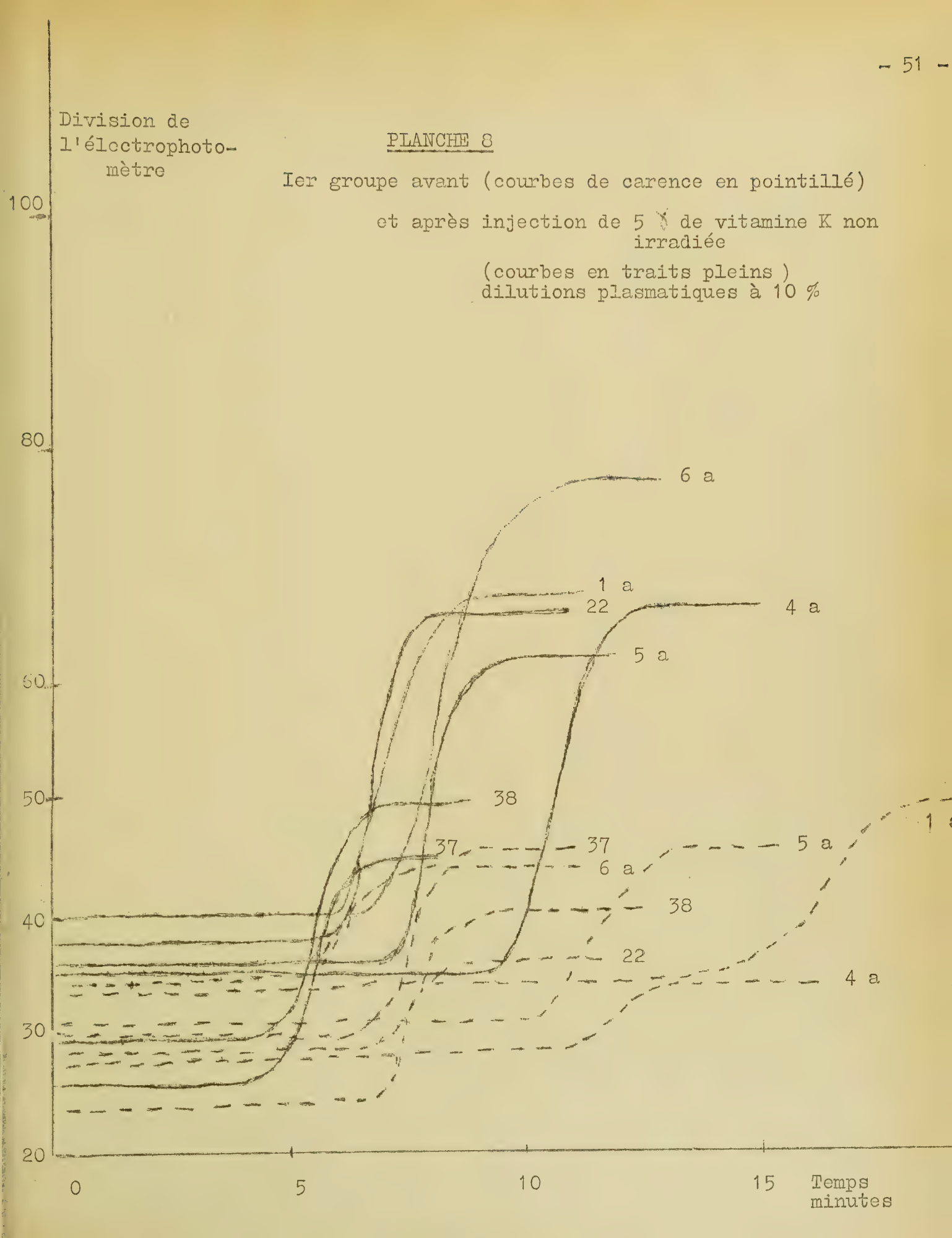
Division de l'électrophotomètre

PLANCHE 8

Ier groupe avant (courbes de carence en pointillé)

et après injection de 5 γ de vitamine K non irradiée

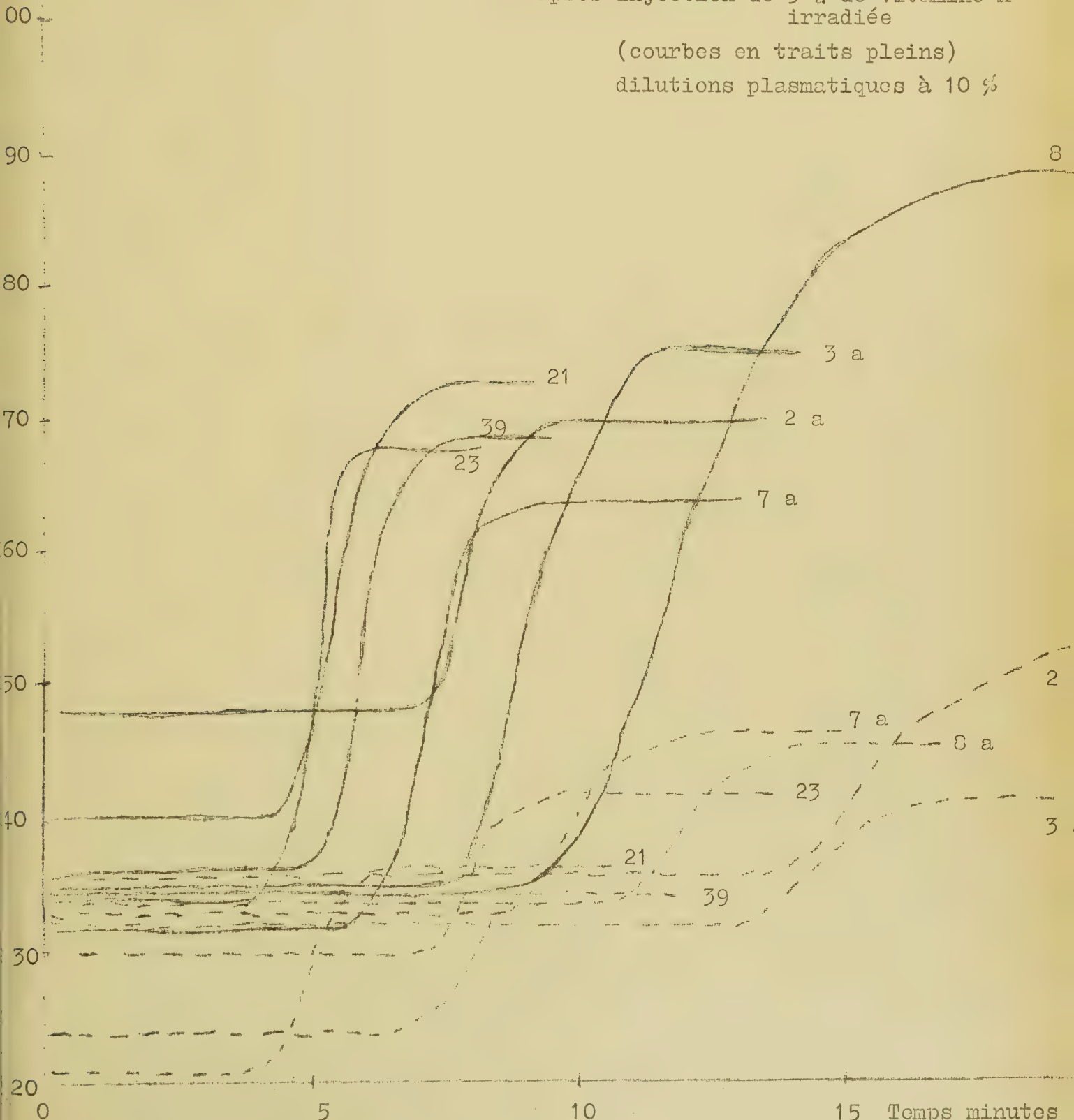
(courbes en traits pleins )
dilutions plasmatiques à 10 %



Division de l'électrophotomètre

PLANCHE 9

IIème Groupe avant (courbes de carence en pointillé) et après injection de 5 γ de vitamine K irradiée (courbes en traits pleins) dilutions plasmatiques à 10 %



V - Résultats obtenus après injection de 2 γ de vitamine K1

Cette deuxième série de travaux a porté sur les groupes de rats III et IV.

Dans le premier temps nous avons carencé les deux groupes et après vérification, nous avons injecté 2 γ de la solution non irradiée au groupe III et 2 γ de la solution irradiée au groupe IV.

Voici, résumés dans les tableaux 9 et 10 les chiffres moyens obtenus pour des dilutions plasmatiques de 5 et 10 %

Tableau 9 (dilutions plasmatiques à 5 %) planche 10

| | Groupe III | | Groupe IV | |
|---|---|---|---|---|
| | carence | après injection | carence | après injection |
| h1 | 29,5 | 30 | 28 | 31 |
| t | 8' | 8'15" | 8' | 11'20" |
| T | 10'50" | 12'55" | 10'45" | 16'55" |
| h2 | 42 | 59,5 | 35 | 56 |
| Δ t | 2'50" | 4'40" | 2'45" | 5'35" |
| h | 12,5 | 29,5 | 7 | 25 |
| T/t | 1,35 | 1,56 | 1,34 | 1,49 |

Tableau 10 (dilutions plasmatiques à 10%) planche 11

| | Groupe III | | Groupe IV | |
|---|---|---|---|---|
| | carence | après injection | carence | après injection |
| h1 | 27 | 25 | 25 | 25 |
| t | 6'15" | 6'15" | 5' | 6'20" |
| T | 9'30" | 11' | 8'45" | 11' |
| h2 | 40 | 80 | 40 | 69 |
| $\Delta$ t | 3'15" | 4'45" | 3'45" | 4'40" |
| h | 23 | 55 | 15 | 44 |
| T/t | 1,52 | 1,76 | 1,75 | 1,73 |

On trouvera sur les planches 10 et 11 les courbes schématiques moyennes correspondant à ces résultats.

Nous constatons là encore que les injections ont corrigé la carence pré-établie.

Toutefois, il nous parait intéressant de souligner que les temps de latence observés avant le début de la coagulation, au contraire de ceux de la première expérience, n'ont pas varié ou même ont augmenté après injection de vitamine K.

Alors que l'injection de 5 $\gamma$ de vitamine, irradiée ou non, abaissait le temps t de latence en proportions notables (de 2'20" à 3'), nous constatons que l'injection de 2 $\gamma$, de vitamine non irradiée, si elle normalise la courbe de coagulation, n'améliore

pas le temps t; d'autre part, ce même temps t est allongé après injection de vitamine irradiée au groupe IV (de 1'20" à 3'20").

Ceci serait donc en faveur d'une possible destruction partielle de la vitamine K. Rappelons que des travaux américains avaient conclu en ce sens (49).

Division de l'électrophotomètre

PLANCHE 10

Courbes schématiques moyennes de la coagulation plasmatique (dilution 5 %) avant et après injection de 2 γ de vitamine K non irradiée (III) et irradiée (IV)

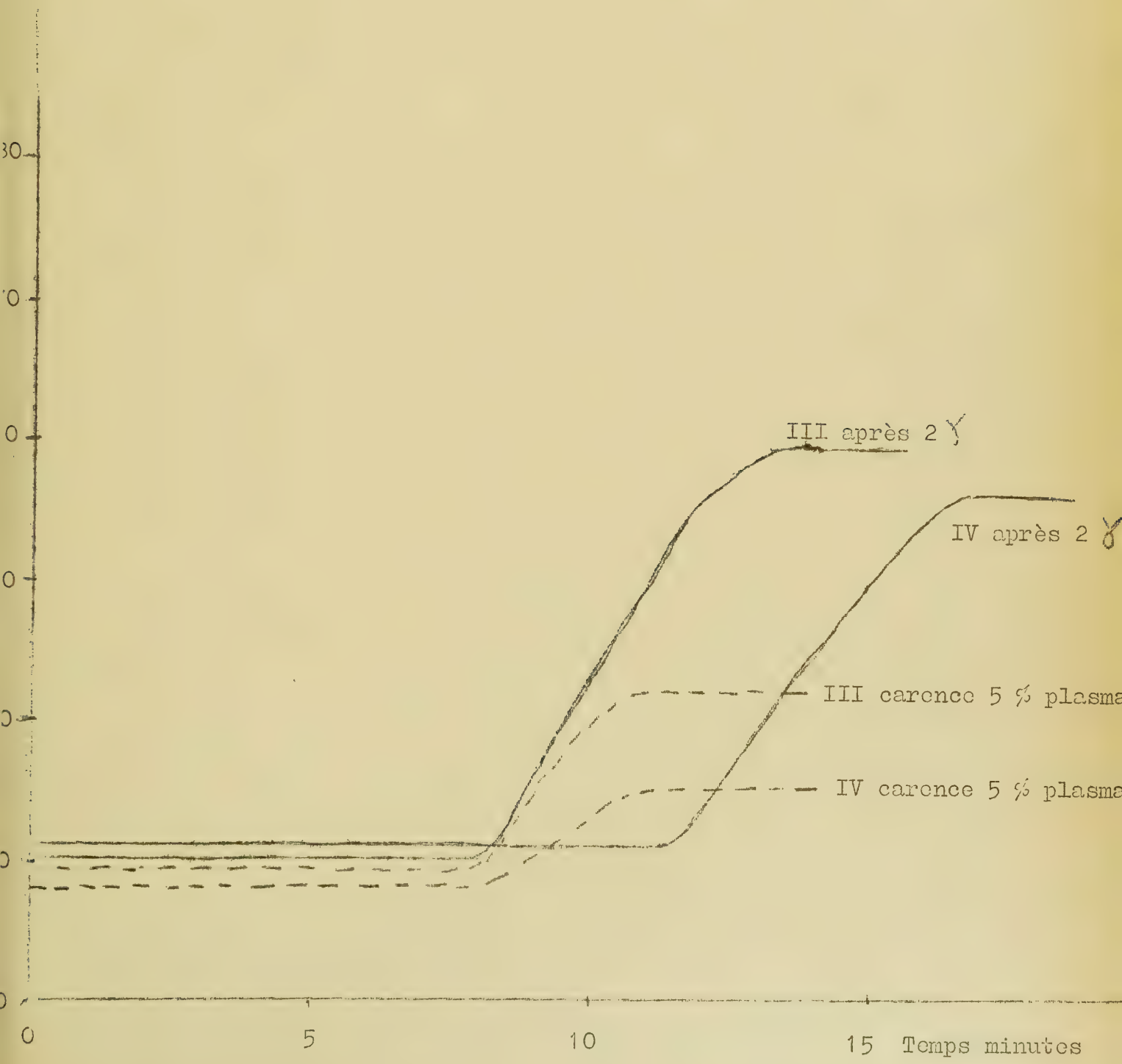
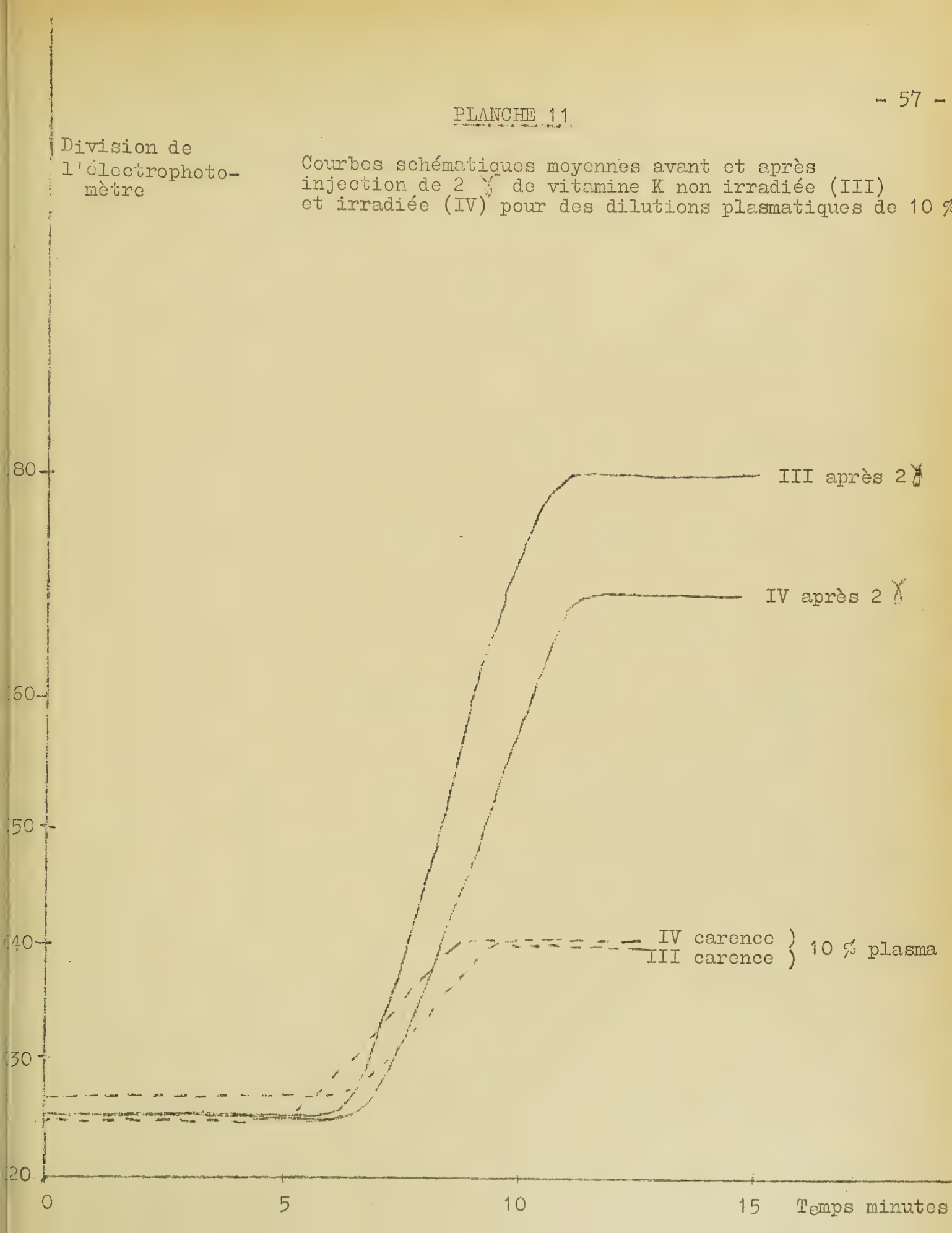


PLANCHE 11

Courbes schématiques moyennes avant et après injection de 2 ‰ de vitamine K non irradiée (III) et irradiée (IV) pour des dilutions plasmatiques de 10 %



VI - Résultats obtenus après injection de 1 γ de vitamine K1.

Dans une troisième partie, nous avons étudié suivant le même protocole la coagulation plasmatique de deux groupes de rats, l'un, le groupe V soumis après carence à une injection de 1 γ de vitamine non irradiée, l'autre, le groupe VI soumis à une injection de 1 γ de vitamine irradiée.

On trouvera dans les tableaux 11 et 12 les chiffres moyens obtenus.

Tableau 11 (5 % de plasma) planche 12

| | Groupe V | | Groupe VI | |
|---|---|---|---|---|
| | carence | après injection | carence | après injection |
| h1 | 30 | 33 | 31 | 32 |
| t | 8'30" | 8'40" | 8'40" | 8' |
| T | 12' | 12'50" | 11' | 11'45" |
| h2 | 43 | 63 | 40 | 65 |
| Δ t | 3'30" | 4'10" | 2'20" | 3'45" |
| h | 13 | 30 | 9 | 33 |
| T/t | 1,41 | 1,48 | 1,27 | 1,46 |

Tableau 12 (10 % de plasma) planche 13

| | Groupe V | | Groupe VI | |
|---|---|---|---|---|
| | carence | après injection | carence | après injection |
| h1 | 26 | 32 | 27 | 29 |
| t | 7'10" | 6'30" | 6'20" | 7'20" |
| T | 11'10" | 10'50" | 9'20" | 11'40" |
| h2 | 47 | 85 | 43 | 94 |
| $\Delta$ t | 4' | 4'20" | 3' | 4'20" |
| h | 21 | 53 | 16 | 65 |
| T/t | 1,55 | 1,66 | 1,47 | 1,59 |

Les planches 12 et 13 représentent les courbes moyennes correspondantes.

Nous retrouverons là encore mais d'une manière plus discrète l'allongement du temps t de début de coagulation après injection de solution irradiée (dilution à 10 % de plasma) (planche 13). Mais par ailleurs la normalisation des courbes semble satisfaisante.

PLANCHE 12

Courbes 5 % plasma après injection 1 ɣ

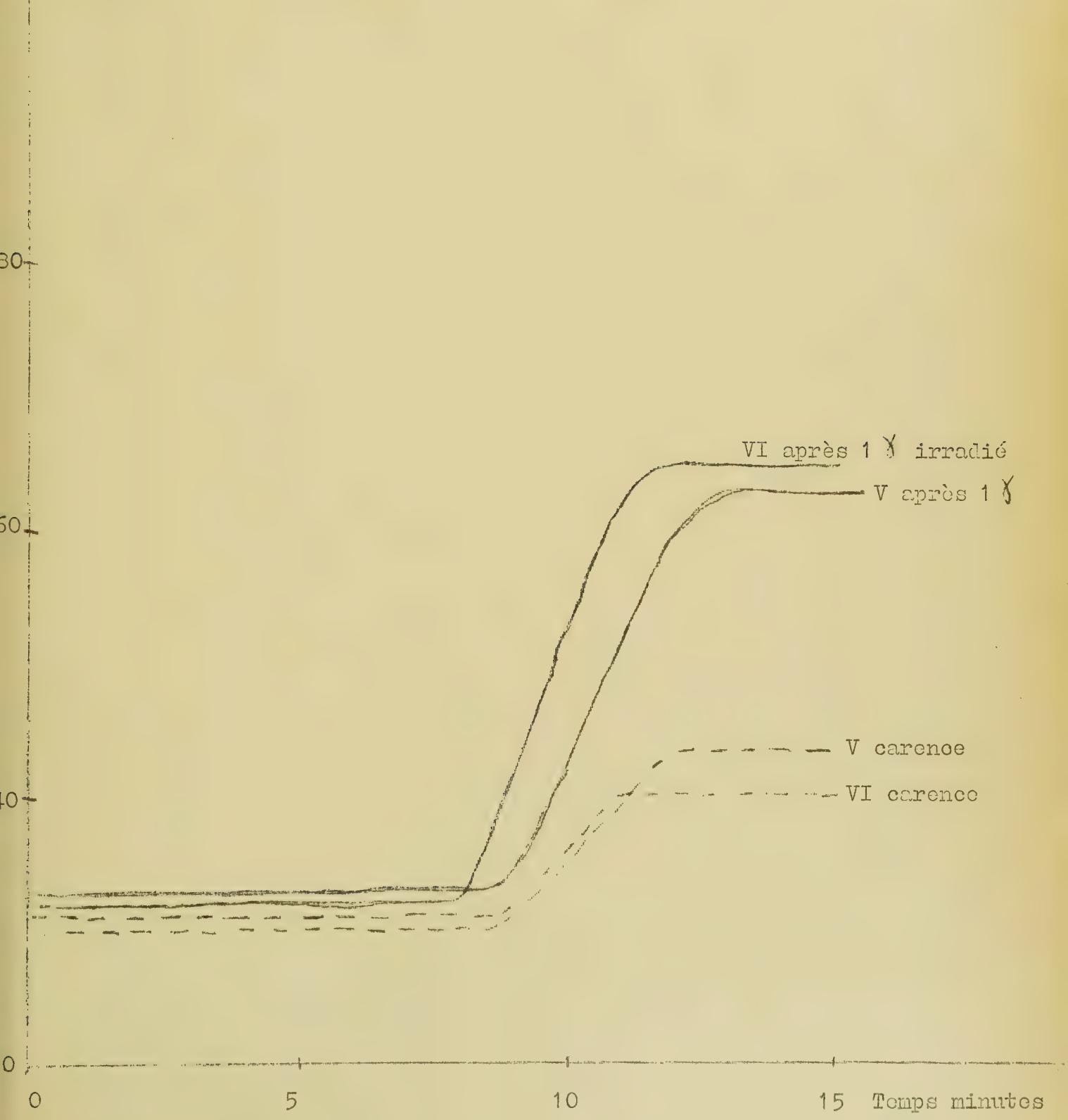
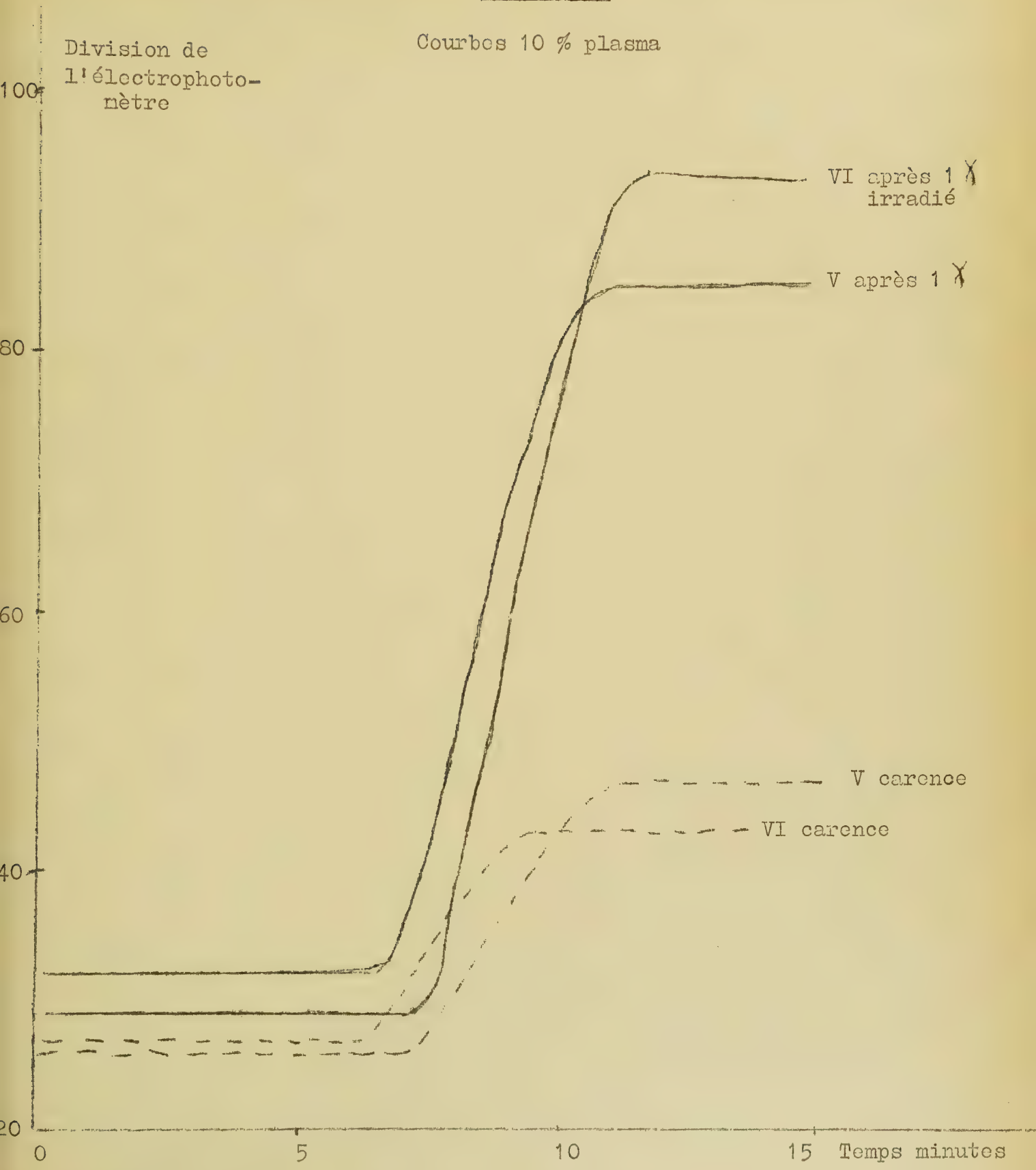


PLANCHE 13


Courbes 10 % plasma
Division de l'électrophotonètre
100
80
60
40
20
0
5
10
15
Temps minutes
VI après 1 X irradié
V après 1 X
V carence
VI carence

VII - Résultats obtenus après injection du solvant seul

Il importait, pour que notre étude soit complète, de vérifier l'inactivité du solvant entrant dans la préparation de la solution.

C'est pourquoi le groupe de rats VII a reçu après carence une injection de solvant correspondant à 5 $\gamma$ de vitamine K.

On trouvera dans le tableau 13 les chiffres moyens relevés et dans la planche 14 les courbes correspondantes.

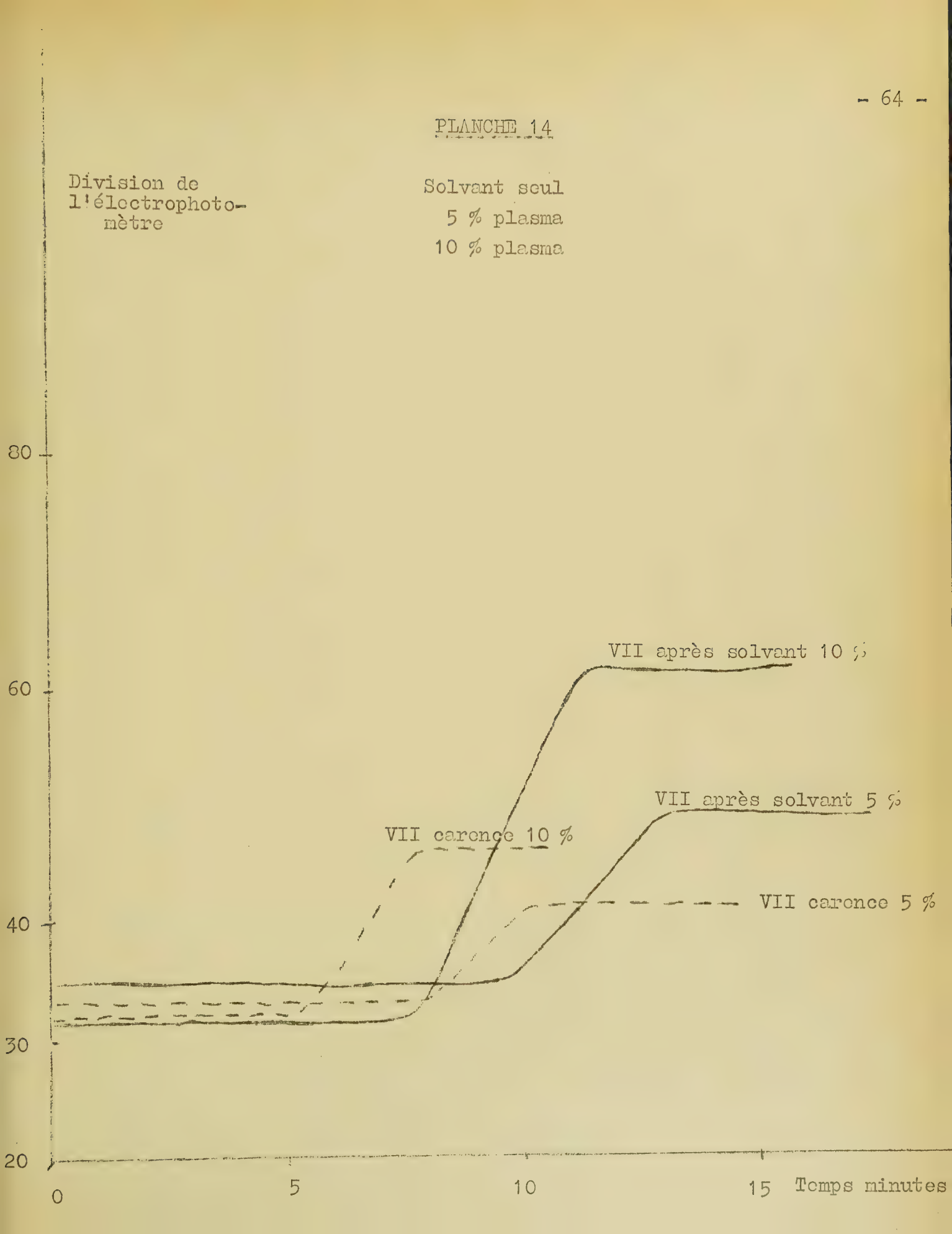
Tableau 13 (groupe VII)

| | 5 % plasma | | 10 % plasma | |
|---|---|---|---|---|
| | carence | injection | carence | injection |
| h' | 33 | 35 | 32 | 32 |
| t | 7'55" | 9'30" | 5'15" | 7'45" |
| T | 10'05" | 12'55" | 7'45" | 11'20" |
| h2 | 41 | 49 | 46 | 61 |
| $\Delta$ t | 2'10" | 3'25" | 2'30" | 3'35" |
| h | 8 | 14 | 14 | 29 |
| T/t | 1,27 | 1,35 | 1,47 | 1,46 |

On notera les temps de latence plus longs après injection, phénomène logique puisqu'on fait les courbes dressées après solvant correspondent à une carence plus avancée. Par contre il semble moins

logique pour les dilutions plasmatiques à 10 % par exemple que les plateaux de fin de coagulation se trouvent si nettement surélevés. Quoiqu'il en soit, l'ensemble des courbes tracées n'évoque en rien une normalisation de la coagulation après injection de solvant.

PLANCHE 14


Division de l'électrophotomètre
Solvant seul
5 % plasma
10 % plasma
80
60
40
30
20
VII après solvant 10 %
VII après solvant 5 %
VII carence 10 %
VII carence 5 %
0
5
10
15
Temps minutes

VIII - Interprétation des résultats obtenus

Si nous comparons les différentes courbes moyennes établies dans les planches 6, 7, 10, 11, 12, 13, nous pouvons tirer quelques conclusions quant au rôle de l'irradiation sur la vitamine K.

1) Premier point qui mérite d'être souligné, toutes les courbes de carence établies sont comparables, ce qui nous permet de prétendre à une série d'expérimentations homogènes.

2) Deuxième point d'importance : de même que nous observons que des injections de 5 γ de vitamine K, irradiée ou non normalisent les courbes de coagulation, nous constatons avec des doses beaucoup plus faibles de vitamine (2 et 1 γ ) une amélioration globale identique de l'insuffisance créée. Ceci nous permet donc de conclure, comme des auteurs américains l'ont déjà affirmé, à l'absence de formation de composés antagonistes par irradiation vitaminique K.

Mais, si les radiations ionisantes ne sont pas susceptibles de provoquer la naissance de composés hémorragiques à partir de la vitamine K1, il reste à savoir dans quelle mesure elles sont capables d'entrainer une destruction de cette vitamine.

3) Si nous examinons d'abord les variations des grandeurs h1, h2 et h avant et après injection de vitamine K, nous constatons :

- que h1 est toujours augmenté après injection,
- que h2 augmente aussi en grande proportion après injection,
- que h (h2-h1) augmente également aussi bien pour la vitamine irradiée que pour la vitamine non irradiée.

On trouvera, résumées dans les tableaux 14, 15, 16 les variations moyennes de ces 3 grandeurs après injection de la solution.

Tableau 14 (variations de h1)

| dilution plasm. | 5 % | 10 % | | 5 % | 10 % |
|---|---|---|---|---|---|
| vit. non irradiée | | | vit. irradiée | | |
| Groupe I (5 γ) | + 7 | + 4 | Groupe II (5 γ) | + 7 | + 7 |
| Groupe III (2 γ) | + 0,5 | - 2 | Groupe IV (2 γ) | + 3 | 0 |
| Groupe IV (1 γ) | + 3 | + 6 | Groupe VI (1 γ) | + 1 | + 2 |

Tableau 15 (variations de h2)

| | 5 % | 10 % | | 5 % | 10 % |
|---|---|---|---|---|---|
| vit. non irradiée | | | vit. irradiée | | |
| Groupe I (5 γ) | + 11,5 | + 20 | Groupe II (5 γ) | + 17 | + 30 |
| Groupe III(2 γ) | + 17,5 | + 40 | Groupe IV (2 γ) | + 21 | + 29 |
| Groupe IV (1 γ) | + 20 | + 38 | Groupe VI (1 γ) | + 25 | + 51 |

Tableau 16 (variations de h)

| | 5 % | 10 % | | 5 % | 10 % |
|---|---|---|---|---|---|
| vit. non irradiée | | | vit. irradiée | | |
| Groupe I (5 γ) | + 4,5 | + 16 | Groupe II (5 γ) | + 10 | + 23 |
| Groupe III (2 γ) | + 17 | + 32 | Groupe IV (2 γ) | + 18 | + 29 |
| Groupe IV (1 γ) | + 17 | + 32 | Groupe IV (1 γ) | + 24 | + 49 |

L'étude de ces 3 tableaux ne montre pas de différences notables entre les groupes qui ont reçu des échantillons normaux et ceux qui ont reçu des échantillons irradiés.

4) Beaucoup plus intéressante est l'étude comparée des temps de la coagulation (t, T, $\Delta$ t) (tableaux 17, 18, 19).

En ce qui concerne les groupes qui ont reçu la vitamine K non irradiée le temps t qui représente le temps de latence avant le début de la coagulation est toujours égal ou inférieur au temps t trouvé pour les courbes de carence. Par contre nous trouvons parfois ce temps t franchement augmenté pour les groupes qui ont reçu de la vitamine irradiée (jusqu'à 3'20").

- nous pouvons faire la même remarque pour le temps T de fin de coagulation qui nous paraît lui aussi allongé après vitamine irradiée,
- et pour la valeur $\Delta$ t (T-t) qui caractérise le temps proprement dit de formation du caillot.

Tableau 17 (variations de t)

| | 5 % | 10 % | | 5 % | 10 % |
|---|---|---|---|---|---|
| vit. non irradiée | | | vit. irradiée | | |
| Groupe I (5 $\gamma$) | - 2'20 | - 1'40 | Groupe II (5 $\gamma$) | - 2'40 | - 3' |
| Groupe III (2 $\gamma$) | + 0'15 | 0 | Groupe IV (2 $\gamma$) | + 3'20 | + 1'20 |
| Groupe V (1 $\gamma$) | + 0'10 | - 0'40 | Groupe VI (1 $\gamma$) | - 0'40 | + 1' |

Tableau 18 (variations de T)

| | 5 % | 10 % | | 5 % | 10 % |
|---|---|---|---|---|---|
| vit.non irradiée | | | vit. irradiée | | |
| Groupe I (5 γ) | - 2'20 | - 1'40 | Groupe II (5 γ) | - 2'20 | - 2'40 |
| Groupe III (2 γ) | + 2'05 | + 1'30 | Groupe IV (2 γ) | + 6'15 | + 2'15 |
| Groupe V (1 γ) | + 0'50 | - 0'20 | Groupe VI (1 γ) | + 0'45 | + 2'20 |

Tableau 19 (variations de Δ T)

| | 5 % | 10 % | | 5 % | 10 % |
|---|---|---|---|---|---|
| vit.non irradiée | | | vit. irradiée | | |
| Groupe I (5 γ) | 0 | 0 | Groupe II (5 γ) | + 0'20 | + 0'20 |
| Groupe III (2 γ) | + 1'50 | + 1'30 | Groupe IV (2 γ) | + 2'50 | + 1'55 |
| Groupe V (1 γ) | + 0'40 | + 0'20 | Groupe VI (1 γ) | + 1'25 | + 1'20 |

Ces différentes observations nous montrent donc des courbes de coagulation d'allure normale pour la vitamine K irradiée mais déplacées dans le temps. Ce décalage par rapport aux courbes relatives à la vitamine K non irradiée pourrait s'expliquer par un certain pourcentage de destruction après irradiation.

5) Nous avons enfin étudié les variations du rapport T/t. On trouvera dans le tableau 20 les valeurs d'accroissement du rapport T/t suivant les différents groupes de rats utilisés.

Tableau 20 (variations de T/t)

| | 5 % | 10 % | | 5 % | 10 % |
|---|---|---|---|---|---|
| vit.non irradiée | | | vit.irradiée | | |
| Groupe I (5 γ) | + 0,10 | + 0,10 | Groupe II (5 γ) | - 0,15 | + 0,25 |
| Groupe III (2 γ) | + 0,21 | + 0,24 | Groupe IV (2 γ) | + 0,15 | - 0,02 |
| Groupe V (1 γ) | + 0,07 | + 0,19 | Groupe VI (1 γ) | + 0,11 | + 0,12 |

La moyenne des rapports T/t pour les courbes de carence s'établit à 1,41 pour les groupes I, III, V qui ont reçu de la vitamine K non irradiée et à la même valeur de 1,41 pour les groupes II, IV et VI ayant reçu la vitamine K irradiée. Nous avons donc là encore une bonne homogénéité de notre population en début d'expérimentation.

La moyenne des rapports s'établit ensuite à 1,55 pour les groupes I, III, V et à 1,50 pour les groupes II, IV et VI.

Rappelons que le rapport optimum se situe pour le rat normal entre 1,55 et 1,75. Il semblerait donc là encore que la normalisation serait moins nette après injection de vitamine K irradiée.

Finalement, il ressort de cette étude que, bien que n'induisant pas de réactions chimiques susceptibles de faire apparaître des composés antagonistes de la vitamine K, l'irradiation pourrait détruire en partie celle-ci. La dose relativement faible d'irradiation que nous avons volontairement employée (1 Mrads) pour rester

dans les limites utilisables en technologie alimentaire n'est certes pas suffisante pour provoquer une destruction massive, mais il convient néanmoins de souligner le phénomène.

IX - Chromatographie - Absorption

1) Chromatographie :

Nous avons tenu à effectuer une étude chromatographique après irradiation. Celle-ci a été faite sur gel de silice dans une solution à 5 % d'huile de paraffine et éther de pétrole.

Après séchage, il a été déposé 10 γ et 20 γ de vitamine K irradiée et non irradiée et on a laissé monter dans acétone (95 ml) et eau (5 ml).

Après séchage à l'étuve, la révélation s'est effectuée en vaporisant avec 15 g. d'acide phosphomolybdique dans 100 ml d'alcool.

Il a été procédé ensuite à un chauffage à 90° C pendant 5 minutes et après exposition de la plaque aux vapeurs d'ammoniaque on a photographié.

Les chromatogrammes sont reproduits sur les planches 15 et 16.

On n'observe pas de modifications particulières après irradiation.

2) Absorption :

Nous avons terminé notre étude en dressant les courbes d'absorption de la vitamine K irradiée et non irradiée (planches 17 et 18).

Là encore, on note peu de modifications dans la répartition spectrale après irradiation de la solution.

PLANCHE 15

Vitamine K N° 1 avant Pâques

10 γ N1 20 γ N1 10 γ 1 20 γ 1

PLANCHE 16

Vitamine K N° 2 le 22.7.1965

10 ♂ K Témoin  20 ♂ K Témoin  10 ♂ K irradiée  20 ♂ K irradiée

PLANCHE 17

Absorption de la vitamine K - I

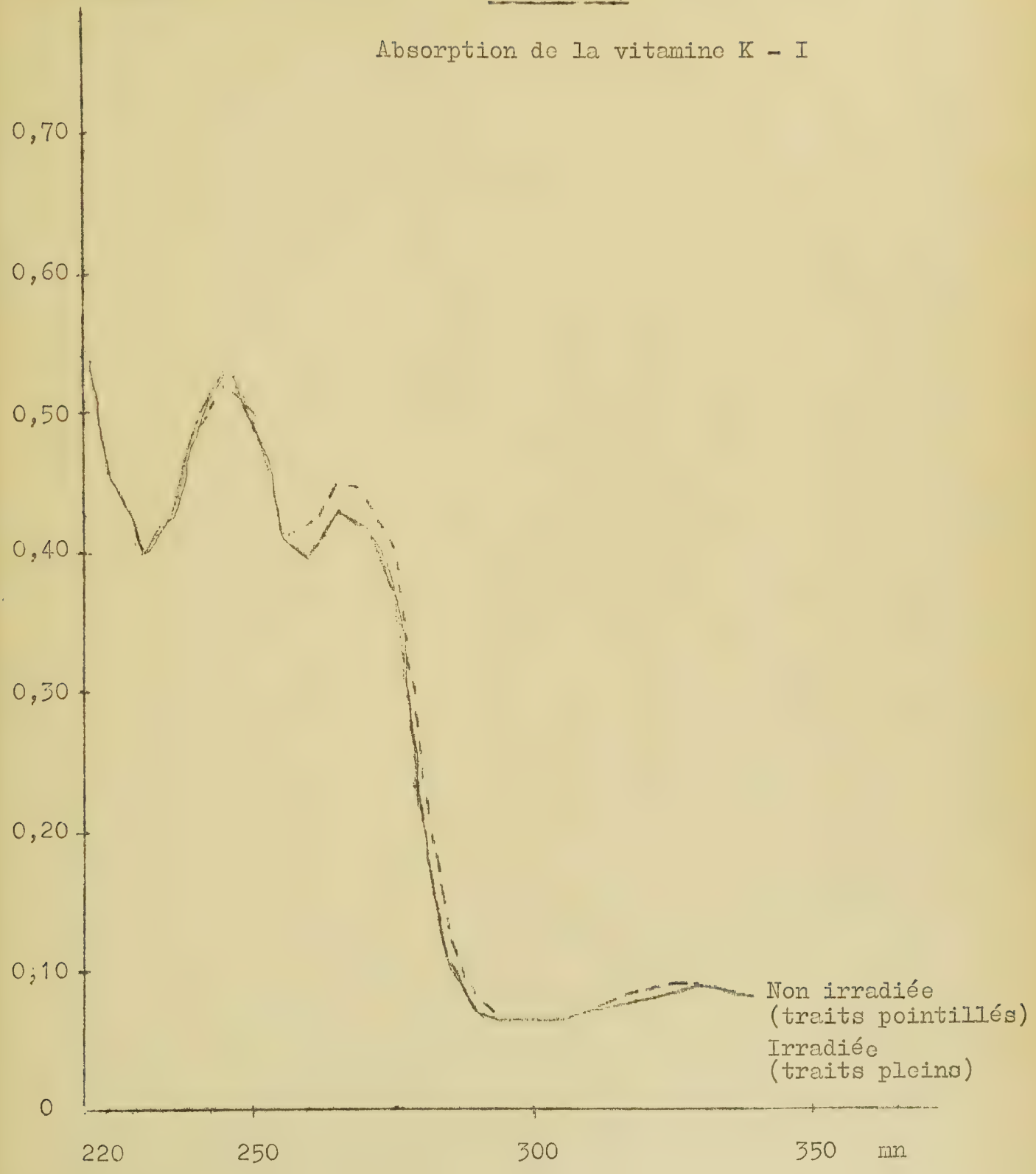
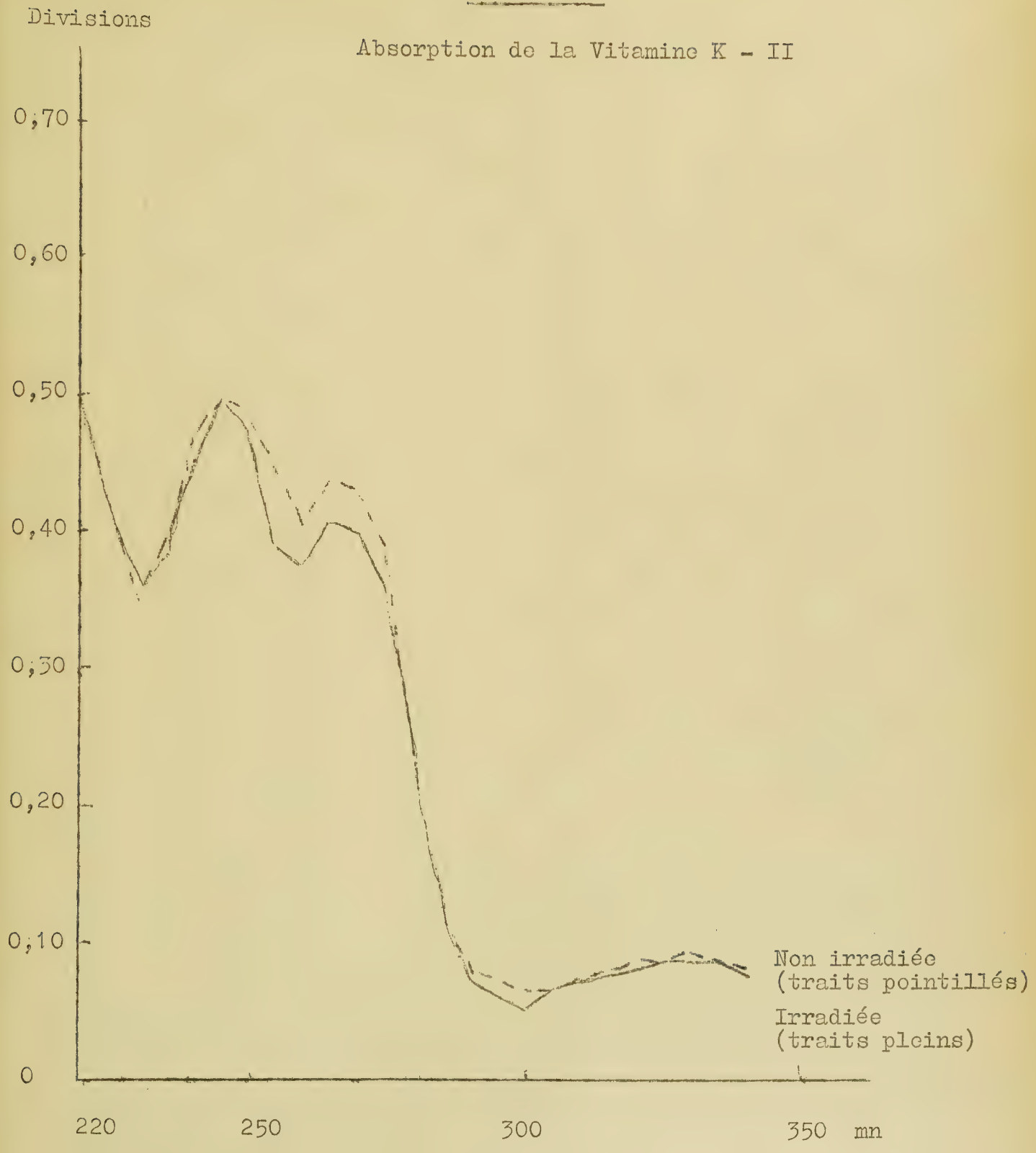


PLANCHE 18


Divisions
Absorption de la Vitamine K - II
0,70
0,60
0,50
0,40
0,30
0,20
0,10
0
220
250
300
350 mn
Non irradiée
(traits pointillés)
Irradiée
(traits pleins)

# C O N C L U S I O N S

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

L'irradiation alimentaire est un problème d'actualité, et sa complexité empêche l'hygiéniste de trancher catégoriquement et rapidement de son emploi à l'échelle industrielle. Des travaux complémentaires s'imposent donc.

Nous avons orienté notre travail sur les effets possibles de l'irradiation sur la vitamine K, en nous rapprochant des conditions proposées pour l'irradiation des aliments.

Des travaux nord-américains intéressant cette vitamine ont démontré l'apparition d'accidents hémorragiques chez le rat après consommation de viande de boeuf irradié avec de fortes doses. Il ne s'agirait pas de la formation de composés capables de produire des hémorragies. Par contre, une destruction de la vitamine K d'environ 50 % dans le boeuf après des doses d'irradiation de 2,78 et 5,58 Mégarads a été observée.

Nous avons voulu, dans notre étude, préciser le comportement de la vitamine K en solutions pures après irradiation.

Les solutions étudiées concernent la vitamine K1, provenant d'ampoules à usage thérapeutique de 1 ml. dosées à 20 mg. de principe actif. Elles ont reçu une dose d'irradiation de 1 mégarad, dose proche des conditions d'utilisation préconisées en technologie alimentaire.

Pour préciser l'existence et l'importance d'une destruction éventuelle de vitamine K, nous avons testé le pouvoir coagulant de la vitamine après irradiation en utilisant le test biologique de Raoul et Hanna chez l'animal carencé. La régularisation des courbes de coagulation chez le rat carencé en vitamine K s'est opérée sans modifications majeures selon que la vitamine introduite pour pallier la carence correspondait à 5 γ, 2 γ, et 1 γ de vitamine normale ou irradiée. Cependant, des modifications mineures dont nous avons précisé les caractères incitent à évoquer une certaine destruction de la vitamine K sous l'effet de l'irradiation.

Ces expériences, d'autre part, n'ont pas permis de mettre en évidence l'apparition de nouvelles substances après irradiation, comme en font également foi l'analyse chromatographique et l'étude des courbes d'absorption.

Travail effectué au Centre de Recherches Foch
(Directeur H. Gounelle) grâce à une subvention de l'INSERM.

VU, le Président,

M. le Professeur KELLERSOHN

VU, le Doyen,

M. le Professeur BROUET

VU, le Recteur,

J. ROCHE

# B I B L I O G R A P H I E

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

1) CAUSERET J. et MOCQUOT G. -

Thermo et radiosensibilité des vitamines.

(Rapport communiqué) (1964).

2) CONSTANT R. -

Il Farmaco - Ed. Pr. - vol XIX - fasc. I (1964).

3) WAYNBAUM M. -

Irradiation des aliments (Rapport)

Documentation C.E.A. - SACLAY (1963).

4) MINISTRY OF HEALTH -

Committee on medical and nutritional aspects of food policy.

Report of the working party on irradiation of food.

London (1964).

5) LECLERC A.M. -

Emploi des radiations ionisantes en technologie alimentaire : teneurs en vitamines.

Les Journées Scientifiques du Centre National de Coordination des Etudes et Recherches sur la Nutrition et l'Alimentation (1962).

6) CHECHAN C. et VAILLES -

Algérie Médicale - nov. 1957, 61, N° 11, 1135-1154.

7) KRAYBILL H.R. -

Effets des radiations ionisantes sur les vitamines et autres composés physiologiquement actifs.

Rapport F.A.O. - Bruxelles - 1961

8) CHAIRE DE PHYSIQUE MEDICALE -

Faculté de Médecine de Paris.

Radiations - Radiobiologie.

Ed. AGEMP (1965).

9) KUPRIANOFF J. -

Conservation des produits alimentaires par l'irradiation.

Bibl. Nutr. Dieta (suppl. Nutr. Dieta) 1960 - N° 1.

10) LEVEQUE P. -

Irradiation des aliments - Centre Europ. Inf. pour l'irrad. des aliments (OECE), Saclay - p. 10 - Juillet, Septembre 1960.

11) SCOTT E.M. -

Irradiation des aliments - Centre Europ. Inf. pour l'irrad. des aliments (OECE), Saclay - Juil. Sept. 1960.

12) KRAYBILL H.R. -

Irradiation des aliments - Centre Europ. Inf. pour l'irrad. des aliments (OECE), Saclay - A2 - Oct. Déc. 1960.

13) JOHNSON B.C. -

Irradiation des aliments - Centre Europ. Inf. pour l'irrad. des aliments (OECE), Saclay - A4 - Oct. Déc. 1960.

14) DE ZEEW D. -

Irradiation des aliments - Centre Europ. Inf. pour l'irrad. des aliments (OECE), Saclay - A6 - Janv. Mars 1961.

15) ERICSSON L.E. -

Irradiation des aliments - Centre Europ. Inf. pour l'irrad. des aliments (OECE), Saclay - A2 - Oct. Déc. 1961.

16) KUPRIANOFF J. -

Irradiation des aliments - Centre Europ. Inf. pour l'irrad. des aliments (OECE), Saclay - A7 - Avril. Juin 1961.

17) GAISCH H. et KAINDL -

Irradiation des aliments - Centre Europ. Inf. pour l'irrad. des aliments (OECE), Saclay - A8 - Janv. Mars 1962.

18) HANSEN Paul-Ivar E. -

Irradiation des aliments - Centre Europ. Inf. pour l'irrad. des aliments (OECE), Saclay - A10 - Janv. Mars 1964.

19) LYONS R.N. -

Nature 155, 633 (1945).

20) MUSHETT C.W. and SEELER A.O. -

J. Pharmacol. Exp. Therap. 91, 84 (1947).

21) NIGHTINGALE G., LOCKHART E.E. and HARRIS R.S. -

Arch. Biochem. 12, 381 (1947).

22) DAM H. and SONDERGAARD O. -

Acta Pharm. Toxicol. 9, 137 (1953).

23) NUTRITION REVIEWS -

14, 211 (1956).

24) REBER , MORRILL C.C., NORTON H.W. and RHOADES H.E. -

J. Nutrition 58, 19 (1956).

25) RICHARDSON L.R., WOODWORTH P. and COLEMAN S. -

Fed. Proc. 15, 924 (1956).

26) GRIMINGER K.P. and FEIGENBAUM A.S. -

Poultry Sci. 37, 1209 (1958).

27) GUSTAFSSON B. -

Ann. N. Y. Acad. Sci. 78, 166 (1959).

28) ISLER O. and WISS O. -

Vitamins and Hormones, 17, 53 (1959).

29) BARNES R.H. and FIALA G. -

J. Nutrition 68, 603 (1959).

30) METTA V.C., MAMEESH M.S. and JOHNSON B.C. -

J. Nutrition 69, 18 (1959).

31) MAMEESH M.S. and JOHNSON B.C. -

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 101, 467 (1959).

32) MAMEESH M.S. and JOHNSON B.C. -

J. Nutrition 71, 122 (1960).

33) JOHNSON B.C., MAMEESH M.S., METTA V.C. and RAMA RAO B. -

Fed. Proc. 19, 1038 (1960).

34) MELETTE S.J. and LEONE L.A. -

Fed. Proc. 19, 1045 (1960).

35) METTA V.C. and JOHNSON B.C. -

J. Nutrition 72, 455 (1960).

36) MELETTE S.J. -

Am. J. Clin. Nutrition 9, 109 (11) (1961).

37) MARTIUS -

Am. J. Clin. Nutrition 9, 97 (111) (1961).

38) NELSON T.S. and NORRIS L.C. -

J. Nutrition 73, 135 (1961).

39) RICHARDSON L.R., WILKES S. and RITCHEY S.J. -

J. Nutrition 73, 369 (1961).

40) DOISY E.A. -

Fed. Proc. 20, 989 (1961).

41) BRODIE A.F. -

Fed. Proc. 20, 995 (1961).

42) NUTRITION REVIEWS -

19, 14 (1961).

43) BARNHART M.I. and ANDERSON G.F. -

Proc. Eighth Cong. European Soc. Hematol. Vienne 1961 -

Art. 400 - 1962.

44) POOL J.P. and BROWN M.B. -

Proc. Eighth Cong. European Soc. Hematol. Vienne 1961 -

Art. 401 - 1962.

45) GOSWAMI P., BARR G.C. and MUNRO H.N. -

Biochim. Biophys. Acta 55, 408 (1962).

46) SATO R., NISHIBAYASHI H. and OMURA T. -

Biochim. Biophys. Acta 63, 550 (1962).

47) VILKAS M. and LEDERER E. -

Experientia 18, 546 (1962).

48) RAY G., CHAKRAVATY N .N. and ROY S.C. -

Ann. Biochem. Exp. Med. 22, 319 (1962).

49) MAMEESH M.S., METTA V.C., RAMA RAO B. and JOHNSON B.C. -

J. Nutrition 77, 165 (1962).

50) SMITH J.L. -

Arch. Biochem. Biophys. 101, 388 (1963).

51) HOSKIN F.C.G. and VON ESCHEN C. -

Arch. Biochem. Biophys. 103, 111 (1963).

52) WEBER M.M., ROSSO G. and NOLL H. -

Biochem. Biophys. Acta 71, 355 (1963).

53) RAMA RAO B., PAOLUCCI and JOHNSON B.C. -

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 112, 393 (1963).

54) GALE P.H. -

Biochemistry 2, 200 (1963).

55) ERICKSON R.E., WAGNER A.F. and FOLKERS K. -

J. Am. Chem. Soc. 85, 1535 (1963).

56) HILL R.B., GAETANI S. and JOHNSON B.C. -

Fed. Proc. 22, 620 (1963).

57) REBER E.F., MALHOTRA OM.P., NALBANDOV A.V. and NORTON H.W. -

J. Nutrition 79, 381 (1963).

58) MALHOTRA OM.P. and REBER E.F. -

J. Nutrition 80, 85 (1963).

59) PAOLUCCI A.M., RAMA RAO B. and JOHNSON B.C. -

J. Nutrition 81, 17 (1963).

60) CONNOR JOHNSON B. -

Nutrition Reviews 22, 225 (1964).

61) FITZGERALD R.J., GUSTAFSSON B.E. and Mc DANIEL E.G. -

J. Nutrition 84, 155 (1964).

62) BLEILER HILL R., SCHENDEL H.E., RAMA RAO P.B. and JOHNSON B.C. -

J. Nutrition 84, 259 (1964).

63) MATSCHINER J.T. and E.A. DOISY Jr. -

J. Nutrition 86, 93 (1965).

64) WOSTMANN B.S. and KNIGHT P.L. -

J. Nutrition 87, 155 (1965).

65) RAOUL Y. et NESSIM RAGHEB-HANNA -

Bulletin Soc. Chim. Biol. - t XXX - N° 9-10, Sept. Oct. 1948, p. 648.

-:-:-:-:-